



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL  
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS - PPGPP



CECILIA HERNANDEZ RAMIREZ

**IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE  
EM ANONÁCEAS E AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE MANEJO**

Rio Largo - AL  
2024

CECILIA HERNANDEZ RAMIREZ

**IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE  
EM ANONÁCEAS E AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE MANEJO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção de grau de Doutora em Proteção de Plantas.

Orientador (a): Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima

Coorientador (a): Profa. Dr<sup>a</sup>. Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa

Rio Largo - AL  
2024

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias**  
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana  
CRB4: 1512

R173i Ramirez, Cecilia Hernandez.

Identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em anonáceas e avaliação de estratégias de manejo. / Cecilia Hernandez Ramirez. – 2024.

124f.: il.

Orientador (a): Gaus Silvestre de Andrade Lima.

Coorientador (a): Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa

Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2024.

Inclui Bibliografia.

1. *Annona*. 2. Patogenicidade. 3. Controle químico. 4. Controle biológico. I. Título.

CDU: 632.937

## Folha de Aprovação

**CECILIA HERNANDEZ RAMIREZ**

### **IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM ANONÁCEAS E AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE MANEJO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção de grau de Doutora em Proteção de Plantas.

Aprovado em: 17/10/2024

#### Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 GAUS SILVESTRE DE ANDRADE LIMA  
Data: 12/11/2024 08:29:38-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Orientador: Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima  
(Universidade Federal de Alagoas)

Documento assinado digitalmente  
 SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA  
Data: 08/11/2024 15:11:02-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro Interno: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sarah Jacqueline Calvacanti da Silva  
(Universidade Federal de Alagoas/UFAL)

Documento assinado digitalmente  
 MARIA DE FATIMA SILVA MUNIZ  
Data: 08/11/2024 17:48:32-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro Interno: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria de Fatima Silva Muniz  
(Universidade Federal de Alagoas/UFAL)

Documento assinado digitalmente  
 JOSEANI CASTRO DA SILVA  
Data: 07/11/2024 09:31:45-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Membro Externo: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Joseani Castro da Silva  
(Secretaria de Agricultura do Estado de Alagoas)

## RESUMO GERAL

As anonáceas são um grupo de plantas de grande importância econômica em várias regiões do mundo, incluindo o Brasil. Entre as principais espécies cultivadas estão a pinheira, a gravioleira e a atemoleira. No entanto, a produção dessas culturas enfrenta significativos desafios fitossanitários, sendo a antracnose, causada pelo fungo do gênero *Colletotrichum*, um dos principais problemas, resultando em perdas significativas da produção. Dessa forma, os objetivos deste trabalho foram identificar por meio da caracterização molecular, morfocultural e testes de patogenicidade espécies do gênero *Colletotrichum* que causam antracnose em anonáceas, bem como avaliar *in vitro* e em mudas de pinheira, gravioleira e atemoleira os efeitos dos fungicidas Difenconazole, Flutriafol, Piraclostrobina, Azoxistrobina + Difenconazol e do *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum theobromicola*. Para a obtenção dos isolados fúngicos de *Colletotrichum* foram realizadas coletas de folhas de atemoleira, gravioleira e pinheira com sintomas de antracnose em plantios comerciais nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará e Pernambuco. Quarenta e oito isolados foram caracterizados, inicialmente, com base nas sequências parciais dos genes gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*). Para confirmar as espécies identificadas na análise com o gene *GAPDH*, onze isolados foram selecionados e submetidos a análises filogenéticas concatenadas com os genes (*GAPDH*, *TUB2* e *ApMat* e região ITS do rDNA). A análise da sequência multi-locus, juntamente com as características morfoculturais e testes de patogenicidade revelaram isolados pertencentes ao complexo *Colletotrichum gloeosporoides*, próximos as espécies *C. theobromicola*, *C. fruticola* e *C. tropicale*. Os isolados foram patogênicos a seus respectivos hospedeiros, assim como no teste de patogenicidade cruzada. O fungicida Azoxistrobina + Difenconazol apresentou as maiores taxas de inibição do crescimento micelial *in vitro* e efeito satisfatório no tratamento preventivo dos isolados de *C. theobromicola*. Além disso, *T. harzianum* apresentou uma redução do crescimento micelial *in vitro*, nos testes de pareamento e de metabólitos voláteis dos isolados de *C. theobromicola*.

**Palavras-chave:** *Annona*; Patogenicidade; Controle químico; Controle biológico.

## GENERAL SUMMARY

Annonaceae are a group of plants of great economic importance in various regions of the world, including Brazil. Among the main cultivated species are the sugar apple, soursop and atemoya. However, the production of these crops faces significant phytosanitary challenges, with anthracnose, caused by the fungus of the genus *Colletotrichum*, being one of the main problems, resulting in significant production losses. Therefore, the objectives of this work were to identify species of the genus *Colletotrichum* that cause anthracnose in anonaceae through of molecular and morphological characterization and pathogenicity tests, as well as to evaluate the effects of the fungicides Difenoconazole, Flutriafol, Pyraclostrobin, Azoxystrobin + Difenoconazole and *Trichoderma harzianum* on the mycelial growth of isolates of *Colletotrichum theobromicola* *in vitro* and on seedlings of atemoya, soursop and sugar apple. Fungal isolates of *Colletotrichum* were obtained from leaves of atemoleira, soursop, and sugar apple exhibiting anthracnose symptoms, collected from commercial plantations in the states of Alagoas, Bahia, Ceará, and Pernambuco. Forty-eight isolates were initially characterized using partial sequences of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) genes. To corroborate the species identified in the GAPDH gene analysis, eleven isolates were selected and subjected to concatenated phylogenetic analyses with the genes GAPDH, TUB2, and APMAT, as well as the *ITS* region of the rDNA. The multi-locus sequence analysis, in conjunction with the morphological characteristics and pathogenicity tests, revealed the presence of isolates belonging to the *Colletotrichum gloeosporioides* complex, closely related to *C. theobromicola*, *C. fruticola*, and *C. tropicale* species. All of the isolates were found to be pathogenic to their respective hosts, as was observed in the cross-pathogenicity test. The fungicide azoxystrobin + difenoconazole demonstrated the highest rates of mycelial growth inhibition *in vitro* and an efficacious preventive treatment effect on *C. theobromicola* isolates. Additionally, *T. harzianum* demonstrated a reduction in mycelial growth *in vitro*, as well as in mating tests and volatile metabolite assays, for the *C. theobromicola*.

**Keywords:** *Annona*; Pathogenicity; Chemical control; Biological control.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelo amor incondicional, pelos conselhos sábios e por sempre acreditarem em mim, mesmo nas minhas escolhas mais desafiadoras.

Aos meus irmãos, por serem minha fortaleza e me acompanharem com carinho e apoio em cada etapa da minha jornada.

À Universidade Federal de Alagoas e à coordenação do curso de Proteção de Plantas do *Campus* de Engenharia e Ciências Agrárias, expresse minha mais profunda gratidão pela oportunidade de ser acolhida como estudante.

À Profa. Dra. Iraildes Pereira Assunção e ao Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima, minha sincera gratidão pela confiança, oportunidade e por todo o apoio prestado ao longo desta caminhada.

À professora Prof<sup>a</sup> Dra Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa pela paciência, compreensão e pelos valiosos ensinamentos que me transmitiu. Sua disposição e apoio foram fundamentais para que eu pudesse concretizar esta importante etapa da minha vida. Suas orientações e dedicação serão sempre lembradas com carinho e admiração.

Ao Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías de México (CONAHCYT) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os professores do programa Proteção de Plantas, do *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias que contribuíram para minha formação profissional até aqui. O aprendizado e as experiências adquiridas ao longo desta jornada foram essenciais para meu crescimento acadêmico e profissional.

Aos colegas da Clínica Fitossanitária e do Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal, aos amigos Taciana Ferreira, Maria Jussara, Tiago Lima, Maria Hilma e Lauristela Hermógenes, agradeço pela ajuda, pelos ensinamentos e a compreensão ao longo desta jornada.

A Jackeline Laurentino, em especial, sou imensamente grata pela grande ajuda durante todo o Doutorado, pela amizade, apoio, compreensão e paciência. Cada um de vocês foi essencial para o meu crescimento e sucesso.

Aos meus amigos Andrea Camacho, Jessica Franco e Miguel Gutierrez que se tornaram uma verdadeira família aqui no exterior, agradeço por estarem comigo nos bons e maus momentos. Sou muito grata por ter coincidido a minha vinda ao Brasil com a de vocês e por compartilharmos juntos esta experiência incrível. A amizade de vocês é um presente valioso que levarei para sempre.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO I

- Figura 1:** Mapa das áreas de coleta das amostras de atemoleira, gravioleira e pinheira .....57
- Figura 2:** Teste de patogenicidade em folhas destacadas com e sem ferimento. Folhas de pinha: isolado 2 BAP (A), 12 ALP (B) e 19 ALP (C); Isolado 58 ALG (D) e 61 BAG (E) em folhas de graviola; Isolado 102 ALA em folhas de atemoia (F); Testemunha de pinha (G), graviola (H) e atemoia (I). ..... 61
- Figura 3.** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana do complexo *Colletotrichum gloeosporioides* baseada nas sequências parciais do gene gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH). Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum boninense* (ICMP17904) .....63
- Figura 4.** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana utilizando GAPDH, TUB2, AP MAT e região ITS para espécies do complexo *Colletotrichum gloeosporioides*. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum boninense* (ICMP17904) .....64
- Figura 5:** Características morfo culturais dos isolados representativos de *Colletotrichum* e sintomas observados em campo e teste de patogenicidade em folhas destacadas de pinheira, gravioleira e atemoleira .....67 - 68
- Figura 6:** Teste de patogenicidade cruzada de isolados de *Colletotrichum theobromicola* associadas à antracnose em anonáceas .....70
- ### CAPÍTULO II
- Figura 1:** Porcentagem de inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando o fungicida Difenconazole.....88
- Figura 2:** Porcentagem de inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando o fungicida Piraclostrobina .....89
- Figura 3:** Porcentagem de inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando o fungicida Flutriafol .....90
- Figura 4:** Porcentagem de inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando o fungicida Azoxistrobina + Difenconazol .....91
- Figura 5:** Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum theobromicola* nas diferentes concentrações do fungicida Difenconazole .....94
- Figura 6:** Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum theobromicola* nas diferentes concentrações do fungicida Flutriafol .....95
- Figura 7:** Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum theobromicola* nas diferentes concentrações do fungicida Piraclostrobina .....96
- Figura 8:** Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum theobromicola* nas diferentes concentrações do fungicida Azoxistrobina + Difenconazol .....97

**Figura 9:** Sensibilidade *in vivo* de isolados de *Colletotrichum theobromicola* ao fungicida Azoxistrobina + Difenconazol .....99

### CAPÍTULO III

**Figura 1.** Teste de micoparasitismo no método de pareamento de cultura *T. harzianum* vs *C. theobromicola* em lâmina sobre placas de Petri, contendo o meio BDA. (A) –“A” antagonista e “P” patógeno em lados opostos. (B) - Testemunha do patógeno. (C) - Testemunha do antagonista .....110

**Figura 2:** Crescimento micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* (A, B, C) e *Trichoderma harzianum* (D, E, F), ao quarto dia .....112

**Figura 3.** Análise de regressão do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) do *Trichoderma harzianum* e dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* .....113

**Figura 4:** Porcentagem de inibição micelial (PIC) dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando *Trichoderma harzianum*, aos 7 dias.....114

**Figura 5:** Teste de pareamento utilizando *Trichoderma harzianum* e isolados de *Colletotrichum theobromicola* .....115 -116

**Figura 6:** Micoparasitismo: interação de hifas de *T. harzianum* versus *C. theobromicola*. (A) – Enrolamento das hifas. (B) - Degradação e enrolamento das hifas. (C) – Testemunha do patógeno (D) – Testemunha do antagonista.....117

**Figura 7:** Teste de metabólitos voláteis utilizando *Trichoderma harzianum* no controle de isolados de *Colletotrichum theobromicola* .....119

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

**Tabela 1.** Isolados de *Colletotrichum* obtidos de pinheira, atemoleira e gravioleira. Os isolados destacados foram enviados para sequenciamento na empresa ACTGene .....58-60

**Tabela 2:** Diâmetro das lesões dos isolados de *Colletotrichum* associadas à antracnose das anonáceas em folhas destacadas .....61

**Tabela 3.** Características morfológicas e culturais de isolados do gênero *Colletotrichum*, representativos de cada clado referente à árvore filogenética multi-locus.....66

**Tabela 4:** Médias dos testes de patogenicidade cruzada dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* em mudas de anonáceas .....69

### CAPÍTULO II

**Tabela 1:** Isolados de *Colletotrichum theobromicola* .....84

**Tabela 2:** Fungicidas utilizados nos testes de sensibilidade .....84

**Tabela 3:** Médias da inibição de velocidade de crescimento micelial (IVCM) nas distintas concentrações dos fungicidas Difenconazole, Flutriafol Piraclostrobina, e Azoxistrobina + Difenconazol no controle de isolados de *Colletotrichum theobromicola* .....92-93

**Tabela 4:** Severidade da antracnose *in vivo* de isolados de *Colletotrichum theobromicola* .....98

### CAPÍTULO III

**Tabela 1:** Índice de velocidade de crescimento micelial e porcentual de inibição micelial *in vitro* de isolados de *Colletotrichum theobromicola* no teste de metabólitos voláteis com *Trichoderma harzianum* .....118

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1. Objetivo Geral.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2. Objetivos Específicos .....</b>	<b>16</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
<b>3.1. Gênero <i>Annona</i> .....</b>	<b>17</b>
3.1.1. Aspectos gerais da pinheira .....	17
3.1.2. Importância econômica da pinheira .....	19
3.1.3. Aspectos gerais da gravioleira .....	20
3.1.4. Importância econômica da gravioleira.....	22
3.1.5. Aspectos gerais da atemoleira.....	24
3.1.6. Importância econômica da atemoleira .....	25
<b>3.2. Antracnose em anonáceas .....</b>	<b>26</b>
3.2.1. Gênero <i>Colletotrichum</i> .....	28
<b>3.3. Controle da antracnose .....</b>	<b>30</b>
3.3.1. Manejo químico .....	30
3.3.1.1. Difenconazole.....	31
3.3.1.2. Piraclostrobina.....	32
3.3.1.3. Flutriafol.....	32
3.3.1.4. Azoxistrobina +Difenconazole.....	33
3.3.2. Manejo biológico .....	34
3.3.2.1. Gênero <i>Trichoderma</i> .....	35
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>37</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>IDENTIFICAÇÃO E PATOGENICIDADE DE ESPÉCIES DE <i>Colletotrichum</i> ASSOCIADAS A ANTRACNOSE EM ANONÁCEAS NO BRASIL.....</b>	<b>48</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>52</b>
<b>2.1. Obtenção e preservação dos isolados .....</b>	<b>52</b>
<b>2.2. Teste de patogenicidade dos isolados de <i>Colletotrichum</i> em folhas destacadas .....</b>	<b>53</b>
<b>2.3. Caracterização molecular .....</b>	<b>53</b>
2.3.1. Extração de DNA e amplificação por PCR .....	53
<b>2.4. Análises filogenéticas .....</b>	<b>54</b>
<b>2.5. Estudos morfofoculturais das espécies de <i>Colletotrichum</i>.....</b>	<b>55</b>

2.6. Teste de patogenicidade cruzada de isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> em mudas de anonáceas.....	55
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>57</b>
3.1. Obtenção dos isolados de <i>Colletotrichum</i> . .....	57
3.2. Teste de patogenicidade dos isolados de <i>Colletotrichum</i> em folhas destacadas. ....	60
3.3. Caracterização molecular dos isolados de <i>Colletotrichum</i> .....	62
3.4. Estudos morfofoculturais das espécies de <i>Colletotrichum</i> . .....	65
3.5. Teste de patogenicidade cruzada dos isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> em mudas de anonáceas.....	69
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>76</b>
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>SENSIBILIDADE DOS ISOLADOS DE <i>Colletotrichum theobromicola</i> A FUNGICIDAS .....</b>	
<b>81</b>	
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>83</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>84</b>
2.1. Obtenção dos isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> .....	84
2.2. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial <i>in vitro</i> de isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> .....	84
2.3. Efeito de fungicidas sobre isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> em mudas de anonáceas.....	86
<b>3. ANÁLISE DOS DADOS .....</b>	<b>87</b>
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>88</b>
4.1. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial <i>in vitro</i> de isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> . .....	88
4.2. Efeito de fungicidas sobre isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> em mudas de anonáceas. ....	98
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>100</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>102</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>103</b>
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE <i>Trichoderma harzianum</i> NO CONTROLE DE <i>Colletotrichum theobromicola</i> CAUSADOR DA ANTRACNOSE EM ANONACEAS...105</b>	
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>107</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>108</b>
2.1. Comparação do crescimento micelial de isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> e <i>Trichoderma harzianum</i> .....	108

2.2. Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> por pareamento.....	108
2.3. Mecanismo de ação do micoparasitismo entre isolados de <i>C. theobromicola</i> e <i>Trichoderma harzianum</i> . .....	110
2.4. Ação de metabólitos voláteis de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre o crescimento micelial de isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> .....	111
3. ANÁLISE DOS DADOS .....	111
4. RESULTADOS .....	112
4.1. Comparação do crescimento micelial dos isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> e <i>Trichoderma harzianum</i> .....	112
4.2. Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> por pareamento.....	113
4.3. Mecanismo de ação do micoparasitismo entre isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> e <i>Trichoderma harzianum</i> .....	117
4.4. Ação de metabólitos voláteis de <i>Trichoderma harzianum</i> sobre o crescimento micelial de isolados de <i>Colletotrichum theobromicola</i> .....	117
5. DISCUSSÃO .....	120
6. CONCLUSÃO.....	122
REFERÊNCIAS.....	123
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	124
ANEXO.....	125

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A família *Annonaceae* engloba cerca de 135 gêneros e, aproximadamente, 2500 espécies de arbustos, arvoretas e árvores (CHATROU et al., 2012; FERREIRA et al., 2019), sendo considerada a maior família da ordem Magnoliales (LOPES; MELLO-SILVA, 2014). Apresentando importância econômica para diversos países, como Austrália, Chile, Espanha, Estados Unidos, Nova Zelândia, Israel, México, Venezuela, Costa Rica, Tailândia, Filipinas, Cuba, Índia e Brasil (SÃO JOSÉ et al., 2014; SOBRINHO, 2014). No Brasil, estas plantas são encontradas na Caatinga, Cerrado, Mata Amazônica, Mata Atlântica e Pantanal, sendo os gêneros *Annona*, *Guatteria*, *Xylopia* e *Duguetia* os mais representativos da flora brasileira (MANICA et al., 2003; MOSCA, 2006).

As espécies frutíferas da família *Annonaceae* de importância econômica a nível mundial, destacam-se por apresentarem potencial para consumo *in natura* e na forma processada, bem como na produção de biocompostos de importância medicinal, alelopática ou praguicida (LEMOS, 2014; SÃO JOSÉ et al., 2014), além de serem utilizadas na ornamentação (SILVA-JÚNIOR, 2012), na extração de metabólitos secundários (SILVA et al., 2007; SIQUEIRA et al., 2011).

Dentre os gêneros de anonáceas encontrados no Brasil, *Annona* merece destaque por possuir culturas de importância econômica como gravioleira (*Annona muricata* L.), pinheira (*Annona squamosa* L.), cherimólia (*Annona cherimolia*, Mill.) e a atemoleira, híbrido de *A. cherimólia* e *A. squamosa* (LEMOS, 2014; SÃO JOSÉ et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2017).

As espécies de pinheira, gravioleira e atemoleira surgem como alternativa de renda comercial, principalmente para regiões de climas tropicais e subtropicais (PEREIRA et al., 2011). Sua produção se constitui como um importante fator de impacto econômico, crescente demanda e interesse pela polpa, por parte do consumidor e das indústrias que utilizam o fruto como matéria-prima para produção de sucos, doces, produtos medicinais, cosméticos e outros (ARAÚJO; LEONEL; NETO, 2008; DE MORAES et al., 2018).

A pinheira é a espécie economicamente mais importante do gênero *Annona*, a segunda cultura com maior produção e cultivo no Brasil é a gravioleira e atualmente a atemoia está sendo uma fruta exótica conquistando o mercado nacional e internacional (IBGE, 2017; OLIVEIRA, 2020). No Nordeste brasileiro, a pinheira e gravioleira

representam 97 e 90%, respectivamente, de toda a área cultivada no país (IBGE, 2017).

O surgimento de pragas e doenças é um dos fatores que tem prejudicado a produção dessas culturas, sendo um dos grandes problemas fitossanitários associados a antracnose, doença que causa perdas significativas em plantios comerciais (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014). O agente causador desta doença é o fungo do gênero *Colletotrichum*, que ocorre em mudas e plantas adultas atacando caules, galhos, folhas, flores e frutos, causando baixos rendimentos (HERNÁNDEZ et al., 2014; COSTA et al., 2019).

A ocorrência de duas ou mais espécies de *Colletotrichum* em um mesmo hospedeiro pode resultar em dificuldades de controle visto as diferenças de comportamento dos mesmos. Devido à complexa situação, a combinação espécie, hospedeiro envolvido e expressão dos sintomas mostram-se insuficiente a definição taxonômica do agente causal, e, por conseguinte, a etiologia geral da doença. Portanto, é necessária uma abordagem polifásica baseado em caracteres morfológicos, análise filogenética multigênica e testes de patogenicidade para uma identificação precisa das espécies de fungo que causam a doença antracnose em anonáceas (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; COSTA et al., 2019; VIEIRA et al., 2020).

Diante das perdas de produção no cultivo das anonáceas devido à antracnose, é comum a realização de intervenções químicas pelos produtores (WORDELL FILHO, 2004; AMORIM, 2016), com o objetivo de diminuir a incidência da doença e assim, garantir alta produtividade e qualidade da produção (SILVA-JUNIOR; BEHLAU, 2018). Contudo, um controle complementar, também faz necessário, como o uso de fungicidas biológicos à base de espécies de *Trichoderma*, que têm sido conhecidas há alguns anos como potencial agente de controle biológico (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como o objetivo identificar por meio de características moleculares, morfocultural e testes de patogenicidade espécies de *Colletotrichum* associadas à atemoleira, gravioleira e pinheira, assim como estudar o efeito *in vitro* de *Trichoderma harzianum* e dos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e Azoxistrobina + Difenconazol, sobre *Colletotrichum theobromicola*, bem como avaliar a eficácia do fungicida selecionado como mais promissor nos testes *in vitro* para ser utilizado no controle da antracnose em mudas da pinheira, atemoleira e gravioleira.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Identificar por métodos moleculares e morfo-culturais espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em anonáceas, assim como avaliar o controle químico e biológico de *Colletotrichum theobromicola*.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Identificar morfológicamente e molecularmente espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em gravioleira, pinheira e atemoleira.
- Avaliar a patogenicidade dos isolados de *Colletotrichum*.
- Avaliar a patogenicidade cruzada de isolados de *Colletotrichum theobromicola*.
- Avaliar o crescimento micelial *in vitro* de isolados de *Colletotrichum theobromicola* submetidos a diferentes concentrações dos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e Azoxistrobina + Difenconazol.
- Avaliar o efeito preventivo e curativo do fungicida Azoxistrobina + Difenconazol no controle de *C. theobromicola* em mudas de pinheira, gravioleira e atemoleira.
- Avaliar a ação do *T. harzianum*, nos testes de pareamento e metabólitos, sobre isolados de *C. theobromicola*.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Gênero *Annona*

O nome genérico deriva do nome hispaniolano Taíno da fruta “anon” e da palavra latina que significa “colheita anual” (PINTO et al., 2005; TUNDIS; XIAO; LOIZZO, 2017). Este gênero é um dos mais importantes, sendo o segundo ou terceiro da família *Annonacea* (TUNDIS; XIAO; LOIZZO, 2017).

As espécies do gênero *Annona*, como *A. muricata* L. (graviola), *A. crassiflora* Mart. (araticum) e *A. squamosa* L. (fruta-do-conde), são conhecidas por fornecer frutos comestíveis amplamente apreciados (RABELO et al., 2016). As frutas são geralmente consumidas frescas (in natura) devido ao seu sabor adocicado e textura cremosa, além de serem bastante versáteis na culinária (OLIVEIRA et al., 2021).

O gênero *Annona* inclui muitas espécies, no entanto, apenas algumas têm relevância econômica significativa, principalmente devido ao valor comercial de seus frutos como *A. squamosa* (pinha ou fruta do conde), *A. cherimola* Mill (Cherimoya), *A. muricata* (guanabana ou graviola), *A. reticulata* L., *A. glabra* L., *A. macrophyllata* D. e *A. atemoya* Mab. (atemoya), um híbrido entre *A. cherimola* e *A. squamosa* (PINTO et al., 2005).

##### 3.1.1. Aspectos gerais da pinheira

A pinheira tem origem nas terras baixas da América Central, na Ilha Trindade, Antilhas. Fatos históricos revelam que essa cultura é nativa da América Tropical, pela existência de nomes em sânscritos, épicos, pinturas e esculturas de cavernas fortificadas (ARAÚJO 2003; RADÜNZ et al., 2019).

No Brasil, foi introduzida em 1626 pelo Conde Diogo Luís de Miranda, originando-se um de seus nomes vulgares, fruta-do-conde (KAVATI, 1992; CORDEIRO et al., 2000; BRAGA SOBRINHO et al., 2012). Posteriormente, a fruta da pinheira recebe várias denominações dependendo da região de plantio, por exemplo: “ata”, no Pará, Maranhão e Ceará; “pinha”, na Bahia, Pernambuco, Paraíba e Alagoas; “fruta-do-conde”, nos estados das regiões Sul e Sudeste (MANICA, 1997; ARAÚJO, 2003).

A pinheira é uma árvore de pequeno porte, aberta, bastante ramificada e que atinge, quando adulta, de 4-6 metros de altura (OLIVEIRA et al., 2005; LEDERMAN, 2019). A raiz principal é do tipo pivotante e de crescimento maior que a parte aérea, o

que confere a planta grande tolerância às variações do teor de umidade nas camadas superficiais do solo principalmente nos cultivos de sequeiro durante os períodos de estiagem (LEDERMAN, 2019).

As folhas apresentam coloração verde-brilhantes, decíduas, pilosas quando jovens, mas lisas quando atingem a maturidade, simples, oblongo lanceoladas, rígidas e dispostas, alternadamente, na posição horizontal ao longo dos ramos (MANICA, 2003).

As flores são pequenas, cerca de 2-5 cm de comprimento, pendentes e originadas na axila foliar dos ramos de um ano de idade ou em ramos novos. Hermafroditas, apresentam-se solitárias ou agrupadas em 2 a 4 e com pedicelo com 1 a 2 cm, com uma base larga, onde estão inseridas três pétalas carnosas de coloração esverdeada, três pequenas sépalas pouco vistosas e numerosos pistilos sobre um receptáculo comum. Na base deste receptáculo, observam-se muitos estames (órgãos masculinos) curtos de cor amarela e, na porção mais superior, grande quantidade de carpelos (órgãos femininos) de coloração púrpura (LEDERMAN, 2019).

O fruto é do tipo baga, composto, cordiforme, redondo ou ovalado, medindo de 5 a 13 cm de diâmetro, formado pela fusão de muitos carpelos simples. O peso médio do fruto é de 200 a 400g (ARAÚJO, 2003), apresentando polpa de coloração branca ou creme que envolve numerosas sementes, sabor adocicado, aromática e comestível (MANICA et al., 2003). A casca do fruto é verde-clara a verde-escura, dependendo da variedade e do estágio de maturação, e coberta no início do desenvolvimento por uma cera esbranquiçada (ARAÚJO, 2003; SCALOPPI-JÚNIOR, 2007).

A propagação da pinheira pode ser feita tanto por via sexuada (sementes), como por assexuada (propagação vegetativa), sendo a primeira mais difundida entre os produtores e viveristas. As plantas adaptam-se à maioria dos tipos de solos, desde que tenham boa drenagem. Os solos arenosos argilosos, profundos, com boa aeração e pH na faixa de 5,5 a 6,5 são, contudo, os mais recomendados. Devem-se evitar solos muito argilosos, pouco profundos ou localizados em baixadas, por encharcarem com facilidade nas épocas de chuvas intensas (CORDEIRO; PINTO; RAMOS, 2000; OLIVEIRA et al., 2005; QUEIROGA et al., 2023).

O cultivo da pinheira é bastante difundido em todo o Brasil, com condições excepcionais de adaptação, especialmente na região Nordeste. Pode ser cultivada em condições de sequeiro, ou seja, sem irrigação, especialmente em áreas com solos

adequados e pluviosidade entre 800-1200 mm por ano. O período seco é favorável ao desenvolvimento e à alta produção da cultura nessas regiões (OLIVEIRA et al., 2005). No Vale do São Francisco, estados da Bahia e de Pernambuco, a pinheira também é cultivada sob irrigação, permitindo o cultivo ao longo de todo o ano, independentemente das condições climáticas sazonais (SÃO JOSÉ, 1997; AMORIM, 2009).

### **3.1.2. Importância econômica da pinheira**

A importância socioeconômica da pinheira no Brasil tem aumentado nos últimos anos (SÃO JOSÉ et al., 2014). A planta adaptou-se bem às regiões Nordeste e Centro-Oeste, onde o cultivo comercial tem efetuado com maior ênfase, principalmente para os pequenos produtores, na região Nordeste (BARROS, 2019; QUEIROGA et al., 2023). Nessa região, os estados que se destacam no cultivo da pinha são: Bahia, com cerca de 34% de toda a área plantada no país, Pernambuco, com 17%, Rio Grande do Norte e Alagoas, que juntos somam 11%. No Centro-Oeste, os estados de Minas Gerais e São Paulo destacam-se no cultivo da fruta (IBGE, 2017; SILVA et al., 2020).

Dados do Censo Agropecuário de 2017, do IBGE, reforçam a significativa produção e área plantada de pinheira no Brasil, com uma quantidade total de frutos produzidos de 8.753 toneladas, sendo a região Nordeste responsável por 95% da produção e 97% de área plantada.

As últimas informações registradas na Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB), em 2015, afirmam que o estado da Bahia é o maior produtor de pinha do Brasil, com 4.200 hectares plantados e produzindo aproximadamente 40 mil toneladas de pinha por ano. Sendo o município de Presidente Dutra, conhecido como a "capital da pinha" por ser o maior produtor da fruta com 3.845 hectares em áreas de sequeiro e irrigado e, o centro de distribuição dos produtos são os estados de São Paulo e Rio de Janeiro (ADAB, 2015).

Em Alagoas foi criado o Programa de Arranjos Produtivos Locais (APL) Fruticultura Pinha, em 2008, com o objetivo de ampliar e conquistar novos mercados para a produção da fruta na região do agreste alagoano. No APL, estão registradas 90 famílias produtoras distribuídas nos municípios de Estrela de Alagoas, Igaci e Palmeira dos Índios. Esses três municípios correspondem a 90% de produção da pinha em Alagoas, que cada vez mais estão intensificando sua produtividade, para distribuição

em diversas regiões do Brasil (AGROLINK, 2017).

O valor de mercado da fruta pode variar de acordo com a qualidade e o tamanho dos frutos, sendo os frutos maiores os mais valorizados. Como outros produtos agrícolas, a pinha apresenta sazonalidade de oferta e preços, sendo vendida a preços que oscilam ao longo do ano a depender da oferta (GOVERNO DE SÃO PAULO, 2020).

Os frutos são consumidos principalmente frescos, pois apresentam sabor cremoso e doce; são nutritivos, ricos em açúcares, proteínas e fósforo, com uma polpa muito digestiva, por isso, são recomendados na alimentação de crianças e idosos. Também são utilizados em sobremesas e na produção de sucos, refrigerantes e sorvetes (MALDONADO et al., 2012). Além de serem ricos em vitaminas B1, B2, B5 e C, cálcio, ferro e sais minerais (KIMATI, 1997), podem ser indicados para pessoas que possuem anemia, desnutridas e com deficiência intelectual. Na medicina popular é usado para tratar câimbras, convulsões e tônico para fortalecer o intestino e o estômago (GRENME, 2017).

Compostos químicos como acetogeninas, diterpenos, óleos essenciais, saponinas e alcaloides são encontrados em diferentes partes da planta, como raízes, folhas, frutos e sementes (LIMA, 2013) apresentando propriedades medicinais para diversas enfermidades. O extrato das raízes tem ação em processos de disenteria, depressão e doença da medula espinhal. Nos frutos, já foi isolado um composto químico chamado 16b, 17 ácidodiidroxikauranóico-19 que apresenta atividade anti-HIV (WU et al., 1996; BRITO et al., 2008). Nas sementes, existem acetogeninas que apresentam atividade inseticida e, em alguns casos, atividade anticancerígena (NAIR; AGRAWAL, 2017).

### **3.1.3. Aspectos gerais da gravioleira**

A gravioleira tem como centro de origem à América Tropical, mais precisamente a América Central e vales peruanos (RAMOS et al., 2001; ANAYA; MONTALVO-GONZÁLEZ, 2020). A cultura é encontrada em regiões desde o nível do mar até altitudes superiores a 1.100 m, distribuídas do Caribe ao Sudeste do México e no Brasil (MORTON, 1966), bem como nas regiões tropicais e subtropicais da Europa, Ásia, África, Nova Zelândia e Austrália (RAMOS et al, 2001; SACRAMENTO et al., 2009).

No panorama mundial do cultivo da graviola, destaca-se o continente americano, sendo México, Brasil, Venezuela, Nicarágua, Colômbia, Costa Rica e Peru os principais produtores, embora se saiba que o cultivo se espalhou pela Europa, Ásia, África e Austrália (ANDRADES et al., 2009; BRAGA, 2014; COSTA et al., 2016).

O fruto da graviola é conhecido por uma variedade de nomes em diferentes regiões e idiomas ao redor do mundo, em países de língua espanhola é chamada de guanábana ou guanaba (MORTON, 1966), também é denominado de zapote de viejas no México, na língua francesa é conhecida como corossolier, cachiman, epineux e países de língua inglesa soursop. No Brasil, a graviola é conhecida por várias denominações, incluindo coração-de-boi, coração-de-rainha, jaca-de-pobre, jaca-do-pará, araticum manso e condessa (PINTO et al., 2001; SACRAMENTO et al., 2009; ARÔXA et al., 2020).

A gravioleira é uma árvore de copa pequena que cresce verticalmente, com altura média de 4 a 8 metros. Começa a produzir frutos entre o terceiro e o quinto ano após o plantio, apresentando pleno desenvolvimento entre o sexto e oitavo ano (FREITAS, 1997; NETO, 2015). Suas folhas são brilhantes, oblongo-lanceoladas ou elípticas, pecíolo curto verde escuro, medem de 14 a 16 cm de comprimento e de 5 a 7 cm na maior largura, suas nervuras são pouco perceptíveis (MANICA et al., 2003; ANOZIE et al., 2023).

As flores são hermafroditas, verde-escura em formato subgloboso ou piramidal quando no estágio de “capulho” e em crescimento é de coloração verde-clara quando próximas da antese, distribuídas em pedúnculos curtos, axilares ou diretamente do tronco (MANICA, 1997), são grandes, sozinhas ou em grupo de até três flores (ANOZIE et al., 2023).

O fruto é considerado o maior do gênero *Annona*, chega a medir de 16,2 a 30,1 cm de comprimento e de 11,3 a 21,2 cm de largura. Apresenta-se múltiplo ou sincarpo, carnoso, proveniente de uma baga composta, pesando 0,4 a 10 kg (MANICA, 1997; SANTOS FILHO et al., 2007; NETO, 2015). O formato da graviola pode variar devido aos óvulos que não foram fecundados. Isso pode influenciar a forma geral do fruto. A casca do fruto possui espículas carnosas moles e recurvadas, que são características distintivas dessa fruta, possuindo uma coloração verde-escura quando estão imaturos e verde-clara quando estão no ponto de colheita (PINTO; SILVA, 1994; SANTOS FILHO et al., 2007; NETO, 2015). Esta espécie se adapta a uma ampla gama de solos,

com diferentes níveis de profundidade e textura; dos francos, franco-argiloso e franco arenoso (INIAP, 2018).

Geralmente as plantas de gravioleira são propagadas por sementes, não diferindo em precocidade daquelas propagadas assexuadamente. Ambos métodos de propagação resultam em plantas que frutificam precocemente, geralmente entre dois e três anos após o plantio (PINTO; RAMOS, 1997).

As cultivares existentes de graviola são a Nordestina ou Crioula e a Morada. A cultivar morada foi introduzida da Colômbia e apresenta frutos grandes, redondos e codiformes, de polpa firme de subácido a ácido, no nordeste brasileiro predomina a Crioula, apresentando frutos codiformes de polpa mole e doce, pesa em torno de 1,5 a 3,0 kg (IPA, 2016).

#### **3.1.4. Importância econômica da gravioleira**

A gravioleira apresenta importância econômica em países como Venezuela, Colômbia, Porto Rico, Costa Rica, México, Panamá, Jamaica, Cuba, Espanha, Índia, Honduras, Guiana, Suriname, Peru, Senegal, Cingapura e Brasil tanto para consumo interno quanto para exportação (SÃO JOSÉ et al., 2014). Na América do Sul, no ano 2020, a Venezuela era o maior produtor desta fruta, pois possuía áreas plantadas superior a mil hectares (ANAYA; MONTALVO-GONZÁLEZ, 2020).

No Brasil, a gravioleira é a segunda anonácea mais cultivada, com uma produção significativa um pouco mais de 7,5 milhões de frutos e uma área colhida de 2.760 hectares (IBGE, 2017). Com presença marcante nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Pará, Paraíba e Pernambuco, sendo o estado da Bahia líder na produção e o Pará o sexto (LOBÃO et al., 2020; BEZERRA; LEDERMAN, 2021).

O cultivo da gravioleira despontou nos estados nordestinos do Brasil como uma alternativa interessante para a pequena agroindústria de polpas congeladas e de outros produtos industrializados, tais como: sorvetes, sucos, néctares, bebidas lácteas (LEMOS, 2014). A comercialização dos frutos frescos de graviola é distribuída nos principais centros de consumo situados, principalmente, nas cidades de São Paulo, Rio de Janeiro, Salvador, Fortaleza e Brasília (SÃO JOSÉ et al., 2014).

O estado de São Paulo, apesar de estar localizado na região sudeste, também desempenha um papel importante na comercialização de graviola. No ano 2017 foram comercializadas 913,27 toneladas, cerca de 77%, desse total são provenientes de dois

municípios baianos: Guandú (67,22%) e Teolândia (10,40%), de acordo com dados da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP, 2020).

No estado de Alagoas, o cultivo da graviola está distribuído em todas as regiões, mas as áreas de maior concentração de plantio estão nos municípios localizados na zona da mata e no agreste (ALBUQUERQUE, 1997), e as cultivares predominantes são dos tipos Morada, Lisa e Blanca. A cultivar Morada, mas plantada no Brasil, foi introduzida no Estado por meio da Secretaria de Agricultura, destacando-se como uma das mais promissora (SANTOS, 2010).

A graviola é valorizada e aproveitada das mais diversas formas, tanto na medicina homeopática, como na culinária caseira (BATISTA et al., 2003). A polpa é consumida e utilizada como ingrediente em muitos alimentos e bebidas, apresentando coloração branca, sucosa, aromática, ligeiramente ácida e com alto teor em vitamina A, B, B1 e C, proteínas, gorduras, carboidratos, cálcio, fosforo e ferro (MANICA et al., 2003; LOPEZ, 2016; CUIDAR, 2016).

A crescente demanda pela polpa da graviola no mercado nacional e internacional é um importante impulsionador para a expansão da área cultivada no Brasil. Seu sabor exótico e aroma singular atraem tanto consumidores quanto indústrias de sucos, sorvetes e doces, o que contribui para a inclusão da graviola entre as frutas tropicais de aceitação comercial no país. Com base nesse interesse e na boa aceitação da fruta pelo mercado, as perspectivas de crescimento da produção de graviola são promissoras (RAMOS et al., 2001; AGEITEC, 2020).

As folhas podem ser usadas para o preparo de chás misturado com outras infusões de ervas (SEJAL-PATEL; PATEL, 2016). Segundo Zubaidi et al. (2023) a graviola possui uso etnomedicinal e medicinal no tratamento de doenças e feridas, diabetes, febre, convulsões e ação antibacteriana contra bactérias como a *Escherichia coli*.

Estudos realizados na Universidade de Pardue, na Califórnia, destacaram o potencial das acetogeninas, encontradas na graviola, para inibir seletivamente o crescimento de células cancerosas. A dose letal 50 (ED50) das acetogeninas da graviola foi encontrada em concentrações de até 10 microgramas por mililitro em estudos conduzidos por cientistas da mesma universidade (HUANABANO, 2013). Liaw et al. (2002) corroboraram que as acetogeninas encontradas nas folhas e sementes da graviola têm uma atividade citotóxica significativa contra células cancerígenas em

testes *in vitro*. Isso significa que essas substâncias têm a capacidade de induzir a morte celular seletivamente em células cancerígenas.

### 3.1.5. Aspectos gerais da atemoleira

A atemoleira é um híbrido derivado do cruzamento da cherimóia (*Annona cherimola*) e a fruta do conde (*Annona squamosa*). Esse cruzamento resulta em uma fruta que combina características desejáveis das duas espécies parentais, algumas vantagens da atemoia incluem um menor número de sementes em comparação a fruta do conde, o que aumenta a praticidade ao consumi-lá; sabor diferenciado e balanceado em termos de teor de sólidos solúveis e maior tempo de prateleira na pós-colheita (LEMONS, 2014; OLIVEIRA et al., 2019).

A cultura da atemoia teve origem no ano de 1908, quando o primeiro cruzamento artificial foi realizado no United States Department of Agriculture's Subtropical Laboratory, em Miami. Em um longo período houve certo desinteresse pela fruta, mas, na década de 40 do século XX, estudos foram iniciados em Israel, visando padronizar sua propagação (MORTON, 1987; VIEIRA et al., 2018). O nome atemoia, para designar o híbrido, é resultante da fusão das letras "ate" (pronúncia inglesa de ata) e "moía" (as últimas letras da palavra cherimóia), sendo tecnicamente incorreto referir-se ao híbrido como *annonna*-atemoia, pois não se trata de uma espécie (TOKUNAGA, 2000).

No Brasil, os primeiros estudos e produções de atemoia ocorreram no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), no estado de São Paulo, durante a década de 1950. Esses estudos foram fundamentais para o desenvolvimento e aprimoramento dessa fruta híbrida no país, sendo as variedades "Gefner" e "Thompson" as mais cultivadas (VIERA et al., 2018).

As árvores de atemoleira são morfologicamente intermediárias entre a cherimóia e a fruta-do-conde em termos de tamanho e forma. Isso significa que elas compartilham características de ambas espécies parentais. Quanto ao porte e à conformação das plantas de atemoia podem variar dependendo da cultivar. Em muitos casos, a copa da planta é esparramada e aberta, o que pode contribuir para que a planta alcance alturas consideráveis, podendo chegar até onze metros, em algumas cultivares (LUNDGREN, 2017).

As folhas da atemoia são descritas como elípticas, ovaladas ou lanceoladas, com dimensões que variam de 10 a 20 cm de comprimento e de 4 a 8 cm de largura. Essas folhas geralmente são relativamente grandes e têm uma forma que pode variar

ligeiramente entre as diferentes variedades (MANICA, 1994).

As flores são hermafroditas e exibe dicogamia protogínica relativamente pequenas (TAKAHASHI, 2008), medindo de 3 a 4 cm de diâmetro, contendo três pétalas de cor amarelo-esverdeadas, podem ser simples ou agrupadas em pencas de 2 a 3 flores, encontradas nas axilas das folhas dos ramos com um ano de idade ou nos brotos novos da planta (MANICA, 1994).

O fruto da atemoia é composto por carpelos agregados, uma característica comum em frutas dessa família, pode variar de esferoide a ovoide, com uma superfície que pode ser lisa ou apresentar protuberâncias, dependendo da variedade (LUNDGREN, 2017). O peso médio dos frutos geralmente varia de 200 g a 450 g, tornando-os relativamente grandes em comparação com outras frutas.

O amadurecimento dos frutos ocorre em aproximadamente de 4 a 6 meses após o florescimento e, durante o processo de maturação, sua cor geralmente muda de verde para amarelo-pálido, a polpa é branca, doce e de consistência média (MANICA, 1994). Por ser um híbrido, deve ser propagada assexuadamente. Pés-francos podem levar 3 a 4 anos para entrar em produção, além de possuírem considerável variação na qualidade de frutos (PINTO, 2005). No Brasil, mudas de atemoia são enxertadas e produzidas por viveiristas certificados com elevado vigor (PEREIRA et al., 2019).

### **3.1.6. Importância econômica da atemoleira**

A atemoia tem despertado interesse entre os produtores e consumidores devido ao sabor semelhante ao da cherimoia e qualidade superior à pinha. Essas características fazem da atemoia uma opção promissora no mercado de frutas, especialmente para produtores que buscam diversificar sua produção e oferecer frutas com qualidade diferenciada aos consumidores (LEMOS, 2014; SILVA et al., 2015).

As áreas de produção da atemoia apresentam-se espalhadas pelo Brasil, destacando-se como maiores produtores os Estados de São Paulo, Paraná e Bahia (IBGE, 2017). De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE até setembro de 2017 a safra da cultura no país foi de aproximadamente 7,5 mil toneladas, colhidas em 1191 hectares. A comercialização do fruto de atemoleira na Ceagesp (Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo) ocupa a 26ª posição entre as setenta e duas frutas, com volume de 2.655,01 toneladas em 2020, 2.865,04 toneladas em 2021 e 1.018,62 toneladas até maio de 2022, movimentando

mais de R\$ 18 milhões (CEAGESP, 2022; SIEM, 2022; GOVERNO DE SÃO PAULO, 2020).

O fruto vem sendo muito apreciado pelo seu sabor, textura, açúcares solúveis e qualidades nutracêuticas (SOBRINHO et al., 2013), oferece uma variedade de nutrientes e compostos benéficos para saúde, possuem altos níveis de vitaminas B1 e B2, C1, cálcio, potássio e ferro (MOSCA, 2006). Além disso, a fruta possui substâncias fenólicas, como os flavonoides que servem como antioxidante e ajudam na atividade microbiana, estas substâncias podem prevenir alguns processos carcinogênicos (LOUREURO, 2013; RABÊLO et al., 2014).

A sua polpa é destinada a elaboração de produtos frescos e processados, além da produção de biocompostos de importância medicinal, alelopática ou pesticida que são característicos das espécies do gênero *Annona* (LEMOS, 2014).

O teor de pectina que contém no fruto é de 31,25%, sendo responsável pela firmeza da parede celular da atemoia, também é um componente que influencia fortemente na textura dos produtos industrializados a partir dessa fruta (SILVA et al., 2010). Em 100g de polpa de atemoia podemos encontrar minerais como potássio (300 mg), fósforo (23 mg), cálcio (23 mg) e vitamina C (10,1 mg), também possui valor de fibra alimentar igual a 2,1g e carboidratos totais igual a 25,3g (MARTIN; NETO, 2015).

### **3.2. Antracnose em anonáceas**

Várias doenças fúngicas podem afetar diversas partes das plantas de atemoieira, gravioleira e pinheira, incluindo folhas, ramos, raízes, flores e frutos, em diferentes etapas de seu desenvolvimento (JUNQUEIRA et al., 1996, JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014; COSTA et al., 2019). No entanto, a antracnose constitui um grave problema nas regiões produtoras de anonáceas, sendo responsável por causar perdas substanciais de 53 a 70%, em casos de chuvas prolongadas no período da floração e formação de frutos (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014; COSTA et al., 2019; QUEIROGA et al., 2023).

A fase de germinação do patógeno é crucial nos processos infecciosos da doença, quando as condições ambientais, como alta umidade e temperatura adequada são favoráveis a germinação dos esporos do fungo que germinam e penetram nos tecidos vegetais, causando infecções (FREIRE; CARDOSO, 1997; ÁLVAREZ et al.,

2014).

Na cultura da pinheira, os sintomas da antracnose ocorrem em vários estágios de desenvolvimento, nas folhas observa-se manchas de coloração pardo-escura ou preta, com o centro mais claro, de contorno irregular. Nos frutos infectados observa-se escurecimento e mumificação. Nos ramos, são encontradas lesões alongadas, deprimidas, que podem provocar a morte dos ponteiros. Nas flores observam-se manchas circulares, de coloração castanho-escuro, que impedem o vingamento e provocam quedas expressivas (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014).

Na gravioleira, a antracnose causa morte das brotações novas e ramos ponteiros. As folhas e brotações afetadas apresentam lesões necróticas escuras e irregulares, o que compromete a capacidade da planta de realizar a fotossíntese e crescer adequadamente. Os sintomas nas flores apresentam-se como pequenas lesões marrom-escuras (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014; HERNÁNDEZ; LÓPEZ, 2019; HILARIO, 2019). Nos frutos observa-se uma podridão negra que mumificam e caem (HILARIO, 2019).

Na atemoia, essa doença afeta o desenvolvimento da planta na brotação, na floração e frutificação atacando o pedúnculo e causando queda de flores e frutos. Nos frutos ocorrem manchas escuras e rachaduras profundas e quando não caem, ficam escuros e mumificados (PLOETZ, 2003; PEREIRA et al., 2019). O fungo pode causar, também, a queima do ponteiro dos ramos (SILVA et al., 2022).

O agente etiológico da antracnose em anonáceas são espécies de fungos pertencentes ao gênero *Colletotrichum*, relatado por diversos autores. No México, foram identificados isolados de *C. fragariae* e *C. gloeosporoides* provenientes de frutos de cherimóia, com sintomas de antracnose (VILLANUEVA-ARCE et al., 2005; 2008). Na Colômbia tem-se relato da espécie *C. acutatum* causando antracnose em frutos de *Annona muricata* (ALVAREZ et al., 2004).

No Brasil, tem-se relatos das espécies de *Colletotrichum fragariae*, *C. boninense*, *C. tropicale*, *C. karstii*, *C. siamense*, *C. theobromicola* e *C. fructicola* causando sintomas de antracnose em folhas de *A. muricata* e *A. squamosa* no estado de Alagoas (KAMEI et al., 2016; COSTA et al., 2017; COSTA et al., 2019). Firmino et al. (2014) relataram a ocorrência das espécies *C. acutatum* e *C. boninense* em plantas de atemoia (folhas, frutos e ramos no município de Botucatu – São Paulo), no estado de Alagoas foram relatadas as espécies de *C. theobromicola*, *C. siamense*, *C. fructicola* e *C. karstii* em folhas e ramos de atemoieira (CÂMARA et al., 2024).

### 3.2.1. Gênero *Colletotrichum*

*Colletotrichum* é um dos principais gêneros de fungos fitopatogênicos, responsável por causar doenças em plantas de importância econômica. Sua distribuição é ampla e suas espécies podem infectar uma grande diversidade de hospedeiros, incluindo cereais, gramíneas, hortaliças, legumes e frutas (COSTA et al., 2019; SILVA et al., 2022; CAMPOS et al., 2021; RIOLO et al., 2021; KANG et al., 2022).

O gênero *Colletotrichum* pertence ao grupo dos fungos anamórficos e está inserido na classe-forma Celomicetos (DAMM et al. 2012; INDEX FUNGORUM PARTNERSHIP 2022;). A fase teleomórfica de suas espécies, quando conhecida, é atribuída ao gênero *Glomerella*, filo Ascomycota. Baseado em estudos filogenéticos, ambas as formas estão acomodadas na classe Sordariomycetes, ordem Glomerellales e família Glomerellaceae (ZHANG et al., 2006; RÉBLOVÁ et al., 2011; GIRALDO; CROUS, 2019).

As espécies do gênero *Colletotrichum* são caracterizadas como formadoras de micélio hialino septado, conídios com formato cilíndrico, fusiforme ou semilunar, de paredes finas e unicelulares, hialinos; e apressórios marrom-escuros, melanizados, com formatos que variam de circular a irregular (SUTTON, 1980; CANNON et al., 2008; MARÍN-FELIX et al., 2017; JAYAWARDENA et al., 2020).

O gênero *Colletotrichum* foi inicialmente introduzido por Tode em 1790 com a denominação de *Vermicularia*. No entanto, em 1831, Corda reclassificou esse gênero, alterando sua denominação para *Colletotrichum* (SUTTON, 1980; HYDE et al., 2009; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022). Em 1951, Von Arx trouxe um grande impacto sobre a taxonomia do gênero, reduzindo o número de espécies de várias centenas a 11, com base em características morfológicas. Contudo, Von Arx realizou a identificação desses táxons baseando-se em descrições de literatura. Sutton em 1980 observou incoerência no trabalho de Von Arx e reconheceu 22 espécies, baseado na morfologia e características culturais. Estudos baseados nestas características continuaram a elevar o número de espécies para 40, em Sutton (1992) e 60 no Dicionário de Fungos (KIRK et al., 2008).

Contudo, os primeiros estudos na área da biologia molecular, utilizando a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase), para diferenciar espécies de *Colletotrichum* foram registradas após o início da década de 1990, resultando em um rápido aumento no número de trabalhos para esclarecer as relações filogenéticas dentro

do gênero (SREENIVASAPRASAD et al., 1992; SHERRIFF et al., 1994; JOHNSTON; JONES, 1997; TALHINHAS et al., 2002; GUERBER et al., 2003; DU et al., 2005).

A identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* com base apenas na morfologia dos conídios e apressórios pode ser limitada devido à variabilidade morfológica dentro do gênero. Com os avanços nas técnicas moleculares, tornou-se possível obter uma diferenciação mais confiável entre as espécies de *Colletotrichum*, no entanto, é importante destacar que uma abordagem integrada, combinando métodos convencionais de identificação morfológica com técnicas moleculares, é muitas vezes recomendada para uma caracterização abrangente e confiável das espécies (FREEMANN et al., 1998; LOPEZ, 2001; TOZZE JÚNIOR et al., 2006; ANDRADE et al., 2007).

Hyde et al. (2009) destacou a importância da identificação das espécies do gênero e a aplicação de análises filogenéticas multi-locus, utilizando genes mais específicos para uma identificação precisa e confiável das espécies. Cai et al. (2009) recomendaram uma abordagem polifásica, que inclui dados moleculares, morfológicos, fisiológicos e relacionados à patogenicidade.

Atualmente, vários genes têm sido utilizados para este fim, incluindo, beta-tubulina (TUB2), actina (ACT), calmodulina (CAL), glutamina sintetase (GS), quitina sintase (CHS), histona (HIS), gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH), superóxido dismutase de manganês (SOD) além da região ITS-rDNA (espaço interno transcrito) e região intergênica dos genes *apn2* e *MAT1-2-1* (*ApMat*) (CANNON et al., 2012; WEIR et al., 2012; MARÍN-FELIX et al., 2017; JAYAWARDENA et al., 2020; VIEIRA et al., 2020)

O gênero abrange atualmente 280 espécies reconhecidas, dentre elas, 15 são espécies isoladas (*singleton*) e as outras 265 espécies estão agrupadas em um dos 16 complexos reconhecidos: *C. gloeosporioides*, *C. gigasporum*, *C. boninense*, *C. acutatum*, *C. graminicola*, *C. caudatum*, *C. spaethianum*, *C. destructivum*, *C. dematium*, *C. truncatum*, *C. orbiculare*, *C. dracaenophilum*, *C. magnum*, *C. orchidearum*, *C. agaves* e *C. bambusicola* (SILVA et al., 2020; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022).

### 3.3. Controle da antracnose

O controle da antracnose em plantas de anonáceas pode ser abordado por meio de uma combinação de métodos e práticas de manejo. Algumas estratégias comumente empregadas para o controle eficaz da doença são a aquisição de sementes vigorosas, sadias e de boa procedência, tratadas com fungicidas registrados para o controle de *Colletotrichum* spp., adubação equilibrada, principalmente adubação potássica, utilização de espaçamentos adequados, buscando evitar a criação de um microclima favorável para o desenvolvimento de fungos, pode-se também fazer o uso de produtos químicos e eliminar os restos culturais (DIAS, 2014; AMORIM, 2016).

Para as anonáceas as práticas culturais são fundamentais para o controle da doença, por exemplo, a eliminação de galhos secos e frutos mumificados ajuda a reduzir a fonte de inóculo dos patógenos. As podas periódicas para arejar as copas das plantas também são importantes, pois aumentam a circulação de ar e reduzem a umidade, criando um ambiente menos favorável para o desenvolvimento de fungos. No entanto, em casos de infecção por antracnose, muitas vezes são necessárias pulverizações preventivas com fungicidas específicos, como difenoconazole e tebuconazole, para controlar a propagação do fungo e reduzir os danos causados à cultura (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014) e o grupo de fungicidas estrobilurinas (GHINI; KIMATI, 2000; VINCELLI, 2002; AVILA-ADAME; KÖLLER, 2003).

#### 3.3.1. Manejo químico

O uso de fungicidas pode ser uma medida eficaz para controlar a antracnose em condições de elevado nível de dano econômico. Pesquisas têm mostrado que o uso de fungicidas do grupo dos benzimidazóis, de maneira isolada em combinação com triazóis, pode ser eficaz no controle da doença em várias culturas, incluindo as anonáceas como a graviola, pinha e atemoia (EMBRAPA, 2008; SILVA-JUNIOR; BEHLAU, 2018).

No sistema de agrotóxicos fitossanitários (Agrofit) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento há registros de produtos pertencentes a diferentes grupos químicos como carboxamida, softalonitrila, benzimidazol, triazol, estrobilurina e cobre, que podem ser utilizados na cultura das anonáceas, no entanto para pinheira, atemoleira e gravioleira o grupo dos triazóis são os mais recomendados

no controle da antracnose (MAPA, 2024).

### 3.3.1.1. Difenconazole

O difenoconazole (C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>) é um fungicida do grupo químico dos triazóis. Pertence à classe dos fungicidas sistêmicos, o que significa que pode ser absorvido pelas plantas e translocado para diferentes partes, incluindo tecidos foliares e frutos, proporcionando proteção contra infecções fúngicas. Apresenta ação preventiva e curativa agindo também como antiesporulante dos fungos, evitando a penetração dos haustórios (DIFENOCONAZOL-SYNGENTA, 2023). Seu modo de ação é interferindo a biossíntese de esteróis na membrana celular (SYNGENTA, 2016).

O Score® EC é o nome comercial para o difenoconazole, registrado pelo Ministério da agricultura no controle de doenças em culturas, tais como: abacate (*Colletotrichum gloeosporioides*), anonáceas (*C. gloeosporioides*), beterraba (*C. beticola*), café (*C. coffeicola*), citros (*C. gloeosporioides*), manga (*C. gloeosporioides*), maracujá (*C. gloeosporioides*) (SCORE-SYNGENTA, 2023).

Alguns estudos fornecem informações pertinentes em relação ao uso do fungicida difenoconazole, como no trabalho de FISCHER, et al. (2017), no qual apresentou-se altamente eficiente (ED<sub>50</sub><1 mg L<sup>-1</sup>) em inibir o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, causador a antracnose em abacate (*Persea americana* 'Hass'). Gunacti (2019) relatou que formulações mistas com fungicidas protetores, como no caso do difenoconazole, são aplicadas via pulverização em formulações simples para o controle de *Phytophthora infestans* em tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

A pesquisa de Shi et al. (2021) fornece evidências de que as espécies de fungos *C. scovillei*, *C. truncatum*, *C. fructicola* e *C. aenigma*, que estão associadas à doença antracnose em pimenta, são sensíveis ao uso deste fungicida, os resultados indicam que o difenoconazole é eficaz na redução significativa do crescimento micelial dessas espécies de *Colletotrichum* quando comparado com o grupo controle não tratado. Iob et al. (2022) observaram que o difenoconazole apresentou um controle de 87% da requeima dos frutos, enquanto a testemunha teve uma porcentagem maior de frutos doentes, sugerindo que o difenoconazole foi eficaz no controle da doença. Tal superioridade pode ser justificada pelo fato do fungicida químico difenoconazole apresentar características positivas com ação imunizante e boa persistência nos

tecidos (DU, 2017).

### 3.3.1.2. Piraclostrobina

A piraclostrobina é um fungicida pertencente ao grupo químico das estrobilurinas é amplamente recomendado para o controle e prevenção do desenvolvimento de doenças em diversas culturas agrícolas, incluindo a antracnose (Oliveira et al., 2015). As estrobilurinas atuam por inibição da respiração mitocondrial pelo bloqueio da transferência de elétrons no complexo III: (complexo bc1: ubiquinol oxidase) e no transporte de elétrons mitocondriais, interferindo na respiração do patógeno (PARREIRA et al., 2009; COMET, 2023).

A piraclostrobina, ingrediente ativo do fungicida Comet® fungicida sistêmico possui fórmula molecular [C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>], nome químico, metil N-{2-[1-(4-chlorofenil)-1H-pirazol-3-iyloximetil] fenil}(N-methoxi) carbamato (COMET, 2023). Essa informação é confirmada em estudos realizados no Brasil, utilizando azoxistrobina e piraclostrobina que apontam para a redução na incidência da antracnose em soja (PESQUEIRA et al., 2016).

O ingrediente ativo da piraclostrobina atua como inibidor do transporte de elétrons nas mitocôndrias das células dos fungos, inibindo a formação de ATP essencial nos processos metabólicos. Com isso, possui ação na proteção das plantas devido a inibição da germinação dos esporos, desenvolvimento e penetração dos tubos germinativos dos patógenos (ADAPAR, 2018; COMET, 2023).

Estudos têm provado que a piraclostrobina, além de atuar sobre o patógeno, apresentam benefícios positivos à fisiologia das plantas e contribuem de forma direta para maiores níveis de produtividade e qualidade (TÖFOLI et al., 2016). Fischer et al. (2012) testaram a ação de piraclostrobina no controle da antracnose em goiaba (*Psidium guajava*), causada por *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*, a qual foi eficiente em inibir o crescimento micelial *in vitro*.

### 3.3.1.3. Flutriafol

O produto comercial FLUTRIAFOL NORTOX® contem como ingrediente ativo ((RS)-2,4'-difluoro-a-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) benzhydryl álcool) é um princípio ativo de fungicida pertencente ao grupo dos triazóis e tem sido amplamente

avaliado para o controle de doenças em uma variedade de culturas agrícolas. Este fungicida tem demonstrado eficácia em muitos patossistemas, e em alguns casos, sua eficiência pode ser superior à de outros triazóis (BHUIYAN et al., 2014; FLUTRIAFOL - SUMITOMO CHEMICAL, 2023).

Uma das características distintivas do flutriafol é sua capacidade de mobilidade na planta, o que significa que ele pode se mover eficientemente através dos tecidos da planta, proporcionando uma proteção mais abrangente contra infecções fúngicas (ZHANG et al., 2015). Além de atuar como inibidor da biossíntese de ergosterol e caracteriza-se por ser altamente eficaz no controle de ascomicetos, basidiomicetos e deuteromicetos. Os triazóis são fungicidas que possuem ação sistêmica, excelente atividade protetora, curativa, antiesporulante, eficiência em doses relativamente baixas (FORCELINI, 1994; KUCK; VORS, 2007; FRAC, 2011).

O flutriafol apresenta mecanismo de ação de desmetilase na biossíntese de esterol, pertencente ao Grupo G1, sendo indicado para o tratamento de doenças da parte aérea de diversas culturas como: abacate, abacaxi, abóbora, abobrinha, algodão, alho, cebola, anonáceas (graviola, pinha/ fruta do conde, cherimóia, atemóia e araticum), banana, batata, batata-doce, batata-yacon, berinjela, beterraba, cacau, café, canola, cará, chalota, chuchu, cupuaçu, ervilha, feijão, feijão-caupi, gengibre, gergelim, girassol, grão-de-bico, guaraná, inhame, jiló, kiwi, lentilha, linhaça, mamão, manga, mandioca, mandioquinha-salsa, maracujá, maxixe, melancia, melão, nabo, pepino, pimenta, pimentão, quiabo, rabanete, romã, soja, tomate (FLUTRIAFOL - SUMITOMO CHEMICAL, 2023).

Bhuiyan et al. (2014) concluíram que o fungicida flutriafol pode ser utilizado para combater a podridão do abacaxi (*Ceratocystis paradoxa*). O trabalho de Souza et., al (2021) demonstra a eficiência do fungicida Flutriafol aplicado via foliar no controle da ferrugem do cafeeiro aos 70 dias após a aplicação.

#### **3.3.1.4. Azoxistrobina +Difenoconazole**

A junção desses dois princípios ativos formula o fungicida do nome comercial Amistar Top®, é um fungicida sistêmico, composto por estrobilurina, azoxistrobina, e um triazol, difenoconazol. Estes ingredientes ativos apresentam dois diferentes modos de ação, o primeiro pertencente ao grupo C3 (Inibidores de extracelulares de Quinona - QoIs) e o segundo pertencente ao grupo G1 (inibidores de desmetilação - DMIs)

(AMISTAR TOP-SYNGENTA, 2022).

Indicado para o controle da antracnose nas seguintes culturas: abacate, acerola, amora, anonáceas, azeitona, cacau, caju, carambola, citros, cupuaçu, feijão, framboesa, guaraná, jiló, kiwi, lichia, macadâmia, grão-de-bico, lentilha, mamão, mandioca, manga, mangaba, mirtilo, pimenta, pimentão, plantas ornamentais, pitanga, romã, seriguela (AMISTAR TOP-SYNGENTA, 2022).

Ferreira et al., 2015 relataram que o produto Amistar Top (Azoxistrobina + Difenconazol) apresentou resultados de controle satisfatórios na dose 0,4 L/ha, com valores de incidência e severidade de oídio (*Podosphaera. xanthii*) inferiores a 25% nas folhas do meloeiro. O difenoconazol e a azoxistrobina têm sido recomendados para o controle da antracnose do cajueiro, especialmente quando o agente causador da doença é o fungo *C. gloeosporioides* (AGROFIT, 2022).

### 3.3.2. Manejo biológico

O controle biológico tem se destacado como uma prática agroecológica essencial no manejo integrado de doenças, atuando no combate aos patógenos vegetais e contribuindo significativamente para a redução do uso excessivo e generalizado de agrotóxicos nas lavouras (BORO et al., 2022).

O controle biológico pode ser definido como a inter-relação de muitos fatores ambientais, com o objetivo de diminuir o efeito nocivo de organismos prejudiciais e favorecer o crescimento de organismos benéficos (SYED et al., 2018).

Os agentes de controle biológico, ou Biological Control Agents (BCAs), são organismos naturais ou modificados utilizados para combater as pragas e os patógenos agrícolas (BORO et al., 2022), que pode ser realizado por organismos que têm ação antagônica contra os patógenos vegetais (SYED et al., 2018).

No controle de doenças, destaca-se o uso de microrganismos antagônicos (fungos e bactérias) como agentes de controle biológico (CARRILLO et al., 2005). As espécies dos gêneros *Streptomyces*, *Bacillus* e *Trichoderma* apresentam-se com potencial antifúngico, devido à produção de compostos antimicrobianos, metabólitos secundários bioativos, enzimas líticas, competição pelo substrato, micoparasitismo, antibiose, desativação de enzimas patogênicas, entre outros (BETANCOURT, 2019).

### 3.3.2.1. Gênero *Trichoderma*

O *Trichoderma* pertence ao filo Ascomycota, à classe Sordariomycetes, à ordem Hypocreales e à família Hypocreaceae. Este gênero é amplamente conhecido por suas propriedades biocontroladoras contra diversos fitopatógenos e por sua capacidade de promover o crescimento das plantas. Inicialmente, foi descrito como um fungo anamorfo, conhecido por produzir massas de esporos de coloração verde, com a espécie tipo sendo o *Trichoderma viride*. No entanto, estudos posteriores mostraram que, *T. viride* era a forma assexual do fungo, correspondendo ao ascomiceto *Hypocrea rufa* (MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019).

O gênero *Trichoderma* é reconhecido por sua importância econômica na agricultura devido à sua capacidade de atuar como agente de controle biológico de doenças em diversas plantas cultivadas. Além disso, as espécies de *Trichoderma* são conhecidas por promover o crescimento das plantas e induzir resistência a doenças de plantas (THONAR et al., 2017).

*Trichoderma* é um dos principais microrganismos empregados no controle biológico de doenças, vários estudos têm comprovado que mecanismos como antibiose, parasitismo, e competição podem ser empregados simultaneamente pelo antagonista frente a um agente patogênico *in vitro*, assim como a indução de resistência e a hipovirulência em plantas (MEYER et al., 2019).

As espécies de *Trichoderma* ditas como oportunistas ambientais são caracterizadas por alguns fenótipos em comum, como ampla distribuição geográfica, rápido crescimento e agressiva colonização de nichos no solo e na rizosfera, alta habilidade de parasitar outros fungos e, como acontece com várias espécies, aptidão para estabelecer interações benéficas com plantas, ocasionando em promoção de crescimento e indução de resistência a doenças (DE ABREU; PFENNING, 2019).

A atividade antifúngica dos metabólitos secundários produzidos por *Trichoderma* é bem reconhecida e tem sido demonstrada em uma variedade de gêneros fúngicos fitopatogênicos, alguns desses gêneros incluem *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Stachybotrys*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Gaeumannomyces*, *Phytophthora*, *Pythium* e *Colletotrichum* (HERMOSA et al., 2014; MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019).

O primeiro produto disponibilizado no mercado para uso no Brasil, à base de *Trichoderma*, foi em 1987, sendo o primeiro registro de um produto comercial à base

de *Trichoderma* em 2006 (BETTIOL et al., 2014; BETTIOL; SILVA; CASTRO et al., 2019).

No ano 2019, existiam 21 produtos registrados como biofungicidas a base de *Trichoderma*, sendo 66% dos produtos registrados à base de *Trichoderma harzianum*, 24% à base de *Trichoderma asperellum*, 5% à base de *Trichoderma koningiopsis* e 5% à base de *Trichoderma stromaticum* (MEYER et al., 2019). Atualmente nos últimos registros apontam que 56 produtos são a base de *Trichoderma* ou compostos de *Trichoderma* spp. + *Bacillus* (AGROFIT, 2023).

Um dos produtos mais comercializados à base de *Trichoderma* é o Trichodermil SC 1306, que tem como ingrediente ativo a espécie *Trichoderma harzianum*. Este produto atua principalmente por meio de mecanismos como competição por espaço e nutrientes, antibiose (produção de substâncias antifúngicas), e parasitismo, onde o *Trichoderma* parasita e mata os patógenos, contribuindo para o controle de doenças nas plantas (TRICHODERMIL SC 1306 - KOPPERT 2023).

Estudos confirmam a eficácia de *Trichoderma*, por exemplo, Yones; Kayim (2021) conduziram pesquisas com folhas destacadas de feijão-fava (*Vicia faba* L.) e os isolados *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. virens* e *T. longibrachiatume* foram eficazes em reduzir a área abaixo da curva de progresso da doença de *B. cinereae*. Resultados similares foram observados em condições de campo, com redução média de 42,63% por Ribeiro et al. (2016), quando utilizou *T. harzianum* para reduzir a agressividade da antracnose em frutos de mamão *in vivo* e *in vitro*. Peláez et al. (2016) relataram uma inibição de 91% *in vitro* do crescimento de *C. gloeosporioides* por *T. asperellum*. De la Cruz et al. (2018) constataram inibições *in vitro* de 9,5; 22,5 e 21,9% por cepas de *T. harzianum*, *T. asperellum* e *T. longibrachiatum*, respectivamente.

## REFERÊNCIAS

- ADAB- Agência de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia. 2015. Disponível em: <http://www.adab.ba.gov.br/> Acesso: março/2024.
- AGEITEC. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. **Graviola**. Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio\\_mata\\_sul\\_pernambucana/arvore/CONT000ffy4wqcj02wx5eo05vmaqksdpvgam.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_mata_sul_pernambucana/arvore/CONT000ffy4wqcj02wx5eo05vmaqksdpvgam.html)>. Acesso: janeiro/2024.
- AGROFIT 2024. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)> Acesso: março/2024.
- AGROLINK (org.). Agrolinkfito: todos os agrotóxicos do brasil para controlar doenças e pragas em sua lavoura. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/>. Acesso em: janeiro/2024.
- ALBUQUERQUE, H. C. Situação, atual e perspectivas para as anonáceas no Estado de Alagoas. In: JOSÉ, A. R; SOUZA, I. V. B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H; **Anonáceas, produção e mercado: pinha, graviola, atemóia e cherimóia**. Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. p. 150-152, 1997.
- ÁLVAREZ, E.; GAÑÁN, L.; ROJAS-TRIVIÑO A.; MEJÍA, J. F.; LLANO, G. A.; GONZÁLEZ, A. Diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species isolated from soursop in Colombia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 139, n. 2, p. 325–338, 2014.
- ÁLVAREZ, E.; OSPINA, C. A.; MEJÍA, J. F.; LLANO, G. A. Caracterización morfológica, patogénica y genética del agente causal de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) em guanábana (*Annona muricata*) en el Valle del Cauca. **Fitopatología Colombiana**. v. 28, n. 1, p. 1-8, 2004.
- AMISTAR TOP-SYNGENTA. **Fungicida amistar top** (Bula 2022). Disponível em: [https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtny466/files/media/document/2023/03/08/BUL\\_A\\_AMISTAR\\_TOP\\_FEV\\_23.pdf](https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtny466/files/media/document/2023/03/08/BUL_A_AMISTAR_TOP_FEV_23.pdf). Acesso: fevereiro/2024.
- AMORIM, M. **Produtores de pinha, ganham novo impulso em Alagoas 2009**. Disponível em: <<http://www.agricultura.al.gov.br/sala-deimprensa/noticias/2009/produtores-de-pinha-ganham-novo-impulso-em-alagoas>>. Acesso em: abril/2024.
- ANAYA, E. L.M.; MONTALVO, E. Bioactive Compounds of Soursop (*Annona muricata* L.) Fruit. In: MURTHY, H.; BAPAT, V. **Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts**. Reference Series in Phytochemistry. Springe. 2020. p. 175-189.
- ANDRADE, E. M.; UESUGI, C. H.; UENO, B.; FERREIRA, M. A. S.V. Caracterização morfocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n. 1, p. 21-31, 2007.
- ANDRADES, I.; YENDER, F.; LABARCA, J.; ULACIO, D.; ESQUIVEL, C. C. P.; MARÍN, Y. Evaluación de la antracnosis (*Colletotrichum* sp.) en guanábana (*Annona muricata* L.) tipo Gigante en el sector Moralito del estado Zulia, Venezuela. **Revista Científica UDO Agrícola**, v. 9, n. 1, p. 148-157, 2009.

ANOZIE, E. L.; EGWUNATUM, A. E.; IGBINOSA, I. O.; UMEH, C. L.; UDEZE, U. Evaluating the Effects of Biochar and Organic Soil Amendments on Seedling Development of *Annona muricata*. Linn. **Asian Journal of Research in Agriculture and Forestry**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2023.

ARAÚJO, J. F. **A cultura da pinha**. Universidade do Estado da Bahia, Egba, Salvador, 2003, 79 p.

ARAÚJO, J. F.; LEONEL, S.; PEREIRA N. J. Adubação organomineral e biofertilização líquida na produção de frutos de pinheira (*Annona squamosa* L.) no submédio São Francisco, BRASIL. **Bioscience. Journal**, Uberlândia, v.24, n. 4, p.48-57, 2008.

ARÔXA, C. N. F.; SILVA, G. F.; SANTOS, J. A. B.; MOREIRA, J. J. S.; BARRETTO, L. C. O. Prospecção Tecnológica sobre o Potencial Industrial do Resíduo da Graviola (*Annona muricata* L.). **Revista INGI-Indicação Geográfica e Inovação**, v. 4, n. 1, p. 664-673, 2020.

AVILA-ADAME, C.; KÖLLER, W. Characterization of spontaneous mutants of *Magnaporthe grisea* expressing stable resistance to the Qo-inhibiting fungicide azoxistrobin. **Current Genetics**, v. 42, n. 6, p. 332-338, 2003.

BATISTA, M. M. F.; VIÉGAS, I. J. M.; FRAZÃO, D. A. C.; THOMAZ, M. A. A.; SILVA, R. C. L. Efeito da omissão de macronutrientes no crescimento, nos sintomas de deficiências nutricionais e na composição mineral em gravioleiras (*Annona muricata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 315-318, 2003.

BETANCOURT, A. A. **Agente causal de antracnose em inflorescências de guanábana (*Annona muricata* L.) em Nayarit, México y alternativas de control *in vitro***. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrícolas) - Universidad Autónoma de Nayarit, 2019.

BETTIOL, W.; SILVA, J.C.; CASTRO, M. L. M. P. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: uso na agricultura**. (ed.). Brasília: Embrapa, 2019.

BEZERRA, J. E; LEDERMAN, I. E. **Graviola**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacaotecnologica/territorios/territorio-mata-sul-pernambucana/atividades-economicas/cultivos/fruticultura/graviola>. Acesso em: 08 fev. 2023.

BHUIYAN, S. A.; CROFT, B. J.; TUCKER, G. R. Efficacy of the fungicide flutriafol for the control of pineapple sett rot of sugarcane in Australia. **Australasian Plant Pathology**, v. 43, n. 4, p. 413-419, 2014.

BORO, M.; SANNYASI, S.; CHETTRI, D.; VERMA, A. K. Microorganisms in biological control strategies to manage microbial plant pathogens: a review. **Archives of microbiology**, v. 204, n. 666, p. 7-15, 2022.

BRAGA SOBRINHO, R. Produção integrada de Anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira Fruticultura**, v.36, p.102-107, 2014.

BRAGA SOBRINHO, R.; MESQUITA, A. L. M.; HAWERROTH, F. J. **Manejo integrado de pragas na cultura da ata**. Circ. téc. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, p.1-27, dez. 2012. (Documento, 153).

TRICHODERMIL SC 1306-KOPPERT (Bula 2023). Disponível em:  
[https://www.koppert.com.br/content/brasil/Documents/Trichodermil/F1342060176\\_Trichodermil\\_SC\\_bula\\_-\\_23.08.2021\\_AGROFIT\\_-\\_Cat\\_5\\_\\_2\\_\\_01.pdf](https://www.koppert.com.br/content/brasil/Documents/Trichodermil/F1342060176_Trichodermil_SC_bula_-_23.08.2021_AGROFIT_-_Cat_5__2__01.pdf). Acesso: outubro/2023.

CAI, L.; HYDE, K. D.; TAYLOR, P. W. J.; WEIR, B. S.; WALLER, J.; ABANGMM, ZHANG, J. Z.; YANG, Y. L.; PHOULIVONG, S.; LIU, Z. Y.; PRIHASTUTI, H.; SHIVAS, R. G.; MCKENZIE, E. H. C.; JOHNSTON, P. R. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, v. 39, n.1, p. 183–204, 2009.

CÂMARA, J. M. S.; COSTA, J. F. O.; LAURENTINO, J. S.; LIMA, T. S.; FERREIRA, T. S.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. *Colletotrichum* species associated with atemoya anthracnose in northeast Brazil *Colletotrichum* species associated with atemoya anthracnose in northeast Brazil. **Comunicata Scientiae**, v. 15, e4111, p. 1-12, 2024.

CAMPOS, L. J. M.; DE ALMEIDA, R. E. M.; DA SILVA, D. D.; COTA, L. V.; NAOE, A. M. L.; PELUZIO, J. M.; DA COSTA, R. V. Physiological and biophysical alterations in maize plants caused by *Colletotrichum graminicola* infection verified by OJIP study. **Tropical Plant Pathology**, v. 46, n. 6, p. 674-683, 2021.

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

CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum*— current status and future directions. **Studies Mycology**, v. 73, n.1, p. 181–213, 2012.

CEAGESP (São Paulo). **Atemoia**. 2022 Disponível em:  
<https://ceagesp.gov.br/guiaceagesp/atemoia/>. Acesso em: janeiro/2024.

CEAGESP. 2020. Companhia de entrepostos e armazéns gerais de São Paulo. Disponível em:  
<https://ceagesp.gov.br/guia-ceagesp/graviola/>. Acesso em: janeiro/2024.

CHATROU, L. W.; PIRIE, M. D.; ERKENS, R. H. J.; COUVREUR, T. L. P.; NEUBING, K. M.; ABBOTT, J. R.; MOLS, J. B.; MAAS, J. W.; SAUNDERS, R. M. K.; CHASE, M. W. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family *Annonaceae* informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**. London, v. 169, n. 1, p. 5-40, 2012.

COMET- ENTA. **Fungicida piraclostrobrina**. Disponível em:  
[https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos\\_restritos/files/documento/2023-05/comet.pdf](https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2023-05/comet.pdf). Acesso: fevereiro/2024

CORDEIRO, M. C. R.; PINTO, A. C. Q.; RAMOS, V. H. V. O cultivo da pinha, fruta-do-conde ou ata no Brasil. Planaltina: Embrapa Cerrados, Circular técnica v. 9, 2000, 52p.

COSTA, J. F. O.; KAMEI, S. H.; SILVA, J. R. A.; MIRANDA, A.R.S.; NETTO, M.B.; SILVA, S. J. C.; CORREIA, K. C.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. Species diversity of *Colletotrichum* infecting *Annona* spp. in Brasil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, p. 1119–1130, 2019.

COSTA, J. F. O.; RAMOS-SOBRINHO, R.; CHAVES, T. P.; SILVA, J. R. A.; PINHO D. B.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G.S.A. First Report of *Colletotrichum fructicola* causing anthracnose on *Annona* leaves in Brasil. **Plant Disease**, v. 101, n. 2, p. 386-387, 2017.

CUIDAR 2016. Graviola. Disponível em: <<http://www.cuidar.com.br/graviola>> Acesso em: 15 de março 2024.

DAMM, U.; CANNON, P. F.; CROUS, P. W. *Colletotrichum*: complex species or species complexes? **CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre (Studies in Mycology)**, v. 73, p. 1-213, 2012.

DE ABREU, L. M.; PFENNING, L. H. O gênero *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. *Trichoderma: uso na agricultura*. Embrapa Soja: Londrina, p.163-179, 2019.

DE MORAES, I. V.; RABELO, R. S.; PEREIRA, J. A. L.; HUBINGER, M. D.; SCHMIDT, F. L. Concentration of hydroalcoholic extracts of graviola (*Annona muricata* L.) pruning waste by ultra and nanofiltration: Recovery of bioactive compounds and prediction of energy consumption. **Journal of Cleaner Production**, v. 174, p. 1412-1421, 2018.

DU, M.; SCHARDL, C. L.; NUCKLES, E. M.; VAILLANCOURT, L. J. Using mating-type gene sequences for improved phylogenetic resolution of *Colletotrichum* species complexes. **Mycologia**, v. 97, n. 3, p. 641-658, 2005.

FERREIRA, G.; DE-LA-CRUZ-CHACÓN, I.; BOARO, C. S. F.; BARON, D.; LEMOS, E. E. P. Propagation of Annonaceous plants. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.41, n.1, p.1-14, 2019.

FIRMINO, A. C.; JUNIOR, H. J. T.; TAMELINI, B. R.; NOSAKI, D. N.; FURTADO, E. L. Identificação de espécies de *Colletotrichum* associados à antracnose em plantas de atemóia e colonização do fungo nos frutos. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 4, p. 323-328, 2014.

FISCHER, I. H.; SILVA, B. L.; SOARES, A. R.; ARRUDA, M. C.; PARISI, M. C. M.; AMORIM, L. Efeito de fungicidas e produtos alternativos no controle da antracnose e da pinta preta da goiaba. Semina. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 2753-2766, 2012.

FISCHER, I. H.; MORAES, M. F.; Palharini, M. C. A.; CRUZ, J. C. S.; FIRMINO, A. C. Ocorrência de antracnose em abacate, agressividade e sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n.2, p. 130-137, 2017.

FLUTRIAFOL- TENAZ, 250 SC/ SUMITOMO CHEMICAL (Bula 2023). **Fungicida flutriafol**. Disponível em: [https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos\\_restritos/files/documento/2020-10/tenaz250sc0920.pdf](https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/tenaz250sc0920.pdf). Acesso em: maio/2023.

FORCELINI, C. A. Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I Triazoles. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.2, p.335-355, 1994.

FRAC INTERNACIONAL. Informação sobre carboxamidas. FRAC, 2017. 3p. (Informativo, 2011). Disponível em: <[http://docs.wixstatic.com/ugd/85b1d3\\_060a6876562140b693f03708057acff2.pdf](http://docs.wixstatic.com/ugd/85b1d3_060a6876562140b693f03708057acff2.pdf)>. Acesso em fevereiro/2024

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, v. 82, n. 6, p. 596-605,

1998.

FREITAS, G. B. **Propagação, florescimento, frutificação e produção da gravioleira** (*Annona muricata* L.). 1997. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. 1ª edição. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 78p. 2000.

GIRALDO, A.; CROUS, P. W. Inside Plectosphaerellaceae. **Studies in mycology**, v. 92, n. 1, p. 227-286, 2019.

GREMME. 2017. Fruta do conde: a fruta da saúde e da juventude. Disponível em: <https://www.greenme.com.br/usos-beneficios/4048-fruta-do-conde-saude-juventude> Acesso em: 08 de dezembro de 2023.

GUERBER, J. C.; LIU, B.; CORRELL, J. C.; JOHNSTON, P. R. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. **Mycologia**, v. 95, n. 5, p. 872- 895, 2003.

HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. **Biotechnology and biology of Trichoderma**. (Ed.). Amsterdam: Elsevier, 2014, p. 125-137.

HILARIO, R, Y. Y. **Control biológico de antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en tres ecotipos de guanábana (*Annona muricata* l.) en condiciones de vivero en el distrito de Chanchamayo**. 2019. Tese (Mestrado em Ciencias Agrícolas Mención: Cultivos Tropicales) - Universidad Nacional Agraria de la Selva Escuela de Posgrado, Tingo María – Perú, 2019.

HUANABANO. **Ação das Acetogeninas nas células de câncer**. 2013. Disponível em: <http://www.inkanatural.com/pt/arti.asp?ref=graviola-huanabano>. Acesso em: janeiro/2024.

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

IBGE. 2017. Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. IBGE. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\_Agricola/Levantamento\_Sistemático\_da\_Producao\_Agricola\_%5Bmensal%5D/Fasciculo/lspa\_201601.pdf>. Acesso em fevereiro/2024.

INDEX FUNGORUM PARTNERSHIP. **Landcare Research-NZ and RBG Kew: Mycology and Institute of Microbiology, Chinese Academy of Science**. 2022. Disponível em: [www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org). Acesso em: 29-08-2024.

IPA 2016. Disponível em: <<http://www.ipa.br/resp21.php>>. Acesso em: dezembro/2023.

JAYAWARDENA, R. S.; HYDE, K. D.; CHEN, Y. J.; PAPP, V.; PALLA, B.; PAPP, D.; WANG, Y. One stop shop IV: taxonomic update with molecular phylogeny for important phytopathogenic genera. **Fungal Diversity**, v. 103, n. 1, p. 87-218, 2020.

JOHNSTON, P. R.; JONES, D. Relationships among *Colletotrichum* isolates from fruitrots assessed using rDNA sequences. **Mycologia**. v.89, n. 3, p. 420-430, 1997.

JUNQUEIRA, N. T. V.; CUNHA, M. M.; OLIVEIRA, M. A. S.; PINTO, A. C. Q. **Graviola para a exportação: aspectos fitossanitários**. Brasília: EMBRAPA/SPI, (Série Publicações Técnicas FRUPEX, 22). 1996, 67p.

JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P. Principais doenças de anonáceas no Brasil: Descrição e Controle. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 55-64, 2014.

KAMEI, S. H.; COSTA, J. F. O.; BRITO NETTO, M. S.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. Identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose de anonáceas no estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 209-216, 2014.

KANG, D.; KIM, J.; LEE, Y.; BALARAJU, K.; JEON, Y. First Report of Anthracnose of *Gossypium indicum* Caused by *Colletotrichum theobromicola* in Korea. **Plant Disease**, v. 106, n. 3, p. 1068, 2022.

KAVATI, R. O cultivo da atemoia. In: DONADIO, L.C. **Fruticultura tropical**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. p.69-70.

KIMATI, H. L et al. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. 705 p.

KIRK, P. M.; CANNON, P.; STALPERS, J.; MINTER, D. W. **Dictionary of the fungi**. 10. ed. Wallingford: CABI Europe - UK, 2008. 784 p.

KUCK, K.H.; VORS, J.P. Sterol biosynthesis inhibitors. In: KRÄMER, W.; SCHIRMER, U. (Ed.). **Modern crop protection compounds**. Berlin: Verlag, 2007. v.2, p.605-650.

LEDERMAN, I. E. **Técnicas de cultivo da pinheira (fruta-do-conde, ata) *Annona squamosa* L.** Todafruta – Artigo Técnico N°8 - Data:25/04/2019.

LEMOS, E. E. P. A produção de anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.1, p.77-85, 2014.

LIU, F.; MA, Z. Y.; HOU, L. W.; DIAO, Y. Z.; WU, W. P.; DAMM, U.; SONG, S.; CAI, L. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. **Studies in Mycology**, v. 101, p. 1–56, 2022.

LOBÃO, A. Q.; LOPES, J. C.; ERKENS, R. H. J.; MENDES-SILVA, I.; PONTES PIRES, A. F.; SILVA, L. V.; OLIVEIRA, M. L. B.; JOHNSON, D.; MELLO-SILVA, R. **Annonaceae in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

LOPEZ J. C.; MELLO-SILVA, R. Diversidade e caracterização das *Annonaceae* do Brasil. Palestra Anonáceas – In: V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação (19 a 23 de agosto de 2013). Botucatu-SP. 2014. v. 36, ed.

especial, p. 125- 131.

LOPEZ, A. M. Q. Doenças das anonáceas e do urucuzeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia**. v. 2, 5 ed., p. 73-77, 2016.

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 9, p.291-337, 2001.

LUNDGREN, G. A. **Conservação de atemoia submetida a 1-Metilciclopropeno**. 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Horticultura) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/ Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu - SP, 2017.

MANICA, I. et al. **Frutas Anonáceas (ata ou pinha, atemólia, cherimólia e graviola)**. Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Cinco Continentes Editora, 2003, 596 p.

MANICA, I. Taxonomia ou sistemática, morfologia e anatomia. In: MANICA, I. **Fruticultura: cultivo das anonáceas**. Porto Alegre: EVANGRAF, p. 3-11, 1994

MANICA, I. Taxonomia, morfologia e anatomia. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. **Anonáceas: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1997. p. 20-35.

MAPA-AGROFIT – SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Disponível em: < [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso: março/2024.

MARIN-FELIX, Y. et al. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. **Studies in Mycology**, v. 86, p.99–216, 2017.

MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. **Trichoderma: uso na agricultura**. (ed.). Brasília: Embrapa, 2019.

MORTON, J. F. Atemoya. In: MORTON, J. F.; Fruits of warm climates. **Creative Resources**, p. 72-75, 1987.

MORTON, J. F. The Soursop of guanábana (*Annona muricata* L.) **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**. v. 79, p. 355-366, 1966.

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, C. E. B.; DANTAS, T. M. D. Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação. Embrapa Agroindústria Tropical. 2006.

NAIR, R.; AGRAWAL, V. A Review on the nutritional quality and medicinal value of custard apple-an under utilised crop of Madhya Pradesh, India. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n, 9, p. 1126-1132, 2017.

OLIVEIRA, A. D. S., et al. Efficacy of insecticides in fruit borer control and residues on sugar apple fruit. **Revista Ceres**, v. 64, n. 2, p. 132-137, 2017.

OLIVEIRA, G. N. D .S. A.; DUTRA, L. M.; PAZ, W. H. P.; SILVA, F. M. A.; COSTA, E. V.; SILVA, A. J. R. G. Chemical constituents from the leaves and branches of *Annona*

*coriacea* Mart. (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 97, 2021.

OLIVEIRA, M. E. F. S.; COSTA, J. F. O.; SILVA, J. L.; BRITO NETTO, M. S.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. Effect of time in the moisture chamber on the anthracnose severity in *Annona squamosa* L. and *A. muricata* L. leaves. **Ciência Agrícola**, v.17, n.1, p.57-61, 2019.

OLIVEIRA, Z. P. et al. **Recomendações técnicas para a cultura da pinha**. Maceió: SEAGRI-AL, 56 p., 2005.

PARREIRA, D. F.; NEVES, W.S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Tropical: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 3, n. 2, p. 24-34, 2009.

PEREIRA, M. C. T. et al. Anonáceas: pinha, atemoia e graviola. **Informe Agropecuário, Belo Horizonte**, v. 32, n. 264, p. 26-34, 2011.

PEREIRA, M. C. T.; NIETSCHE, S.; SÃO JOSE, A. R.; LEMOS, E. E. P.; MIZUBUTSI, G. P.; CORSATO, C. F.; ALVARENGA, C. D. Anonáceas: Pinha (*Annona squamosa* L.), Atemóia (*Annona squamosa* x *Annona cherimola* Mill.) e graviola (*Annona muricata*). In: PAULA-JUNIOR, T. J.; VENZON, M. (Eds). **Culturas: manual de tecnologias agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2019, p.111-123.

PESQUEIRA, A. S.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Fungicide association in the control of anthracnose in the soybean in Mato Grosso do Sul. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 203-212, 2016.

PINTO, A. C. Q. Agronomy. In: PINTO, A. C. Q.; CORDEIRO, M. C. R.; ANDRADE, S. R. M. de; FERREIRA, F. R.; FILGUEIRAS, H. A. de C.; ALVES, R. E.; KINPARA, D. I. **Annona species**. 2005. p. 71-126

PINTO, A. C. Q.; RAMOS, V. H. V.; RODRIGUES, A. A. Aspectos botânicos. In: OLIVEIRA, M. A. S (ed.). **Graviola. Produção: aspectos técnicos. Embrapa Cerrados (Planaltina, DF). Brasília: Embrapa Informação Tecnológica**. (Frutas do Brasil; 15). p. 10-12. 2001.

PINTO, A. C. Q.; SILVA, E. M. Graviola para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA-SPI, (Série Publicações Técnicas FRUPEX; 7). 41p, 1994.

PINTO, A.C. de Q.; RAMOS, V.H.V. Melhoramento genético da graviola. In: SÃO JOSÉ, A.R.; SOUZA, J.V.B.; MORAIS, O.M.; REBOUÇAS, T.N.H., (Ed.) **Anonáceas: produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimóia)**. Vitória da Conquista: Universidade Estadual do Sul da Bahia, p. 55-60,1997.

PLOETZ, R. C. Diseases of atemoya, cherimoya, soursop, sugar apple and related fruit crops. In: PLOETZ, R. C. **Diseases of tropical fruit crops**. Flórida: Cabi Publishing, 2003. p. 21-34.

QUEIROGA, V. P. et al., Pinha (*Annona squamosa*, L.): Tecnologias de plantio e utilização. 1ed. Campina Grande: **Associação da Revista Eletrônica a Barriguda (AREPB)**. 188P., 2023.

RABELO, S. V.; QUINTANS, J. S. S.; COSTA, E. V.; DA SILVA ALMEIDA, J. R. G.;

- JÚNIOR, L. J. Q. *Annona* species (*Annonaceae*) oils. In: PREEDY, V. R. (Ed.). **Essencial Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. Academic Press: Department of Nutrition and Dietetic, King's College London, London, UK. p. 221–229, 2016.
- RADÜNZ, M.; CAMARGO, T. M.; RIBEIRO, J. A.; RADÜNZ, A. L. Fruta do conde e saúde (*Annona squamosa*, L.): uma breve revisão. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 20, n.1, p. 113-121, 2019.
- RAMOS, V. H. V. et al. Graviola: produção: aspectos técnicos. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, p. 9, 2001.
- RÉBLOVÁ, M.; GAMS, W.; SEIFERT, K. A. Monilochaetes and allied genera of the *Glomerellales*, and a reconsideration of families in the Microascales. **Studies in Mycology**, v.68, p.163-191, 2011.
- RIBEIRO, J. G.; SERRA, I. M. R. S.; ARAÚJO, M. U. P. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.2, p.160-164, 2016.
- RIOLO, M.; ALOI, F.; PANE, A.; CARA, M.; CACCIOLA, S. O. Twig and shoot dieback of citrus, a new disease caused by *Colletotrichum* species. **Cells**, v. 10, n. 2, p. 449, 2021.
- SACRAMENTO, C. K.; MOURA, J. I. L.; COELHO JUNIOR, E. Graviola. In: SANTOS-SEREJO, J. A.; DANTAS, J. L. L.; SAMPAIO, C. V.; COELHO, Y, S. **Fruticultura tropical: espécies regionais e exóticas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 95-132, 2009.
- SANTOS FILHO, A. L. **Germinação de sementes, estaquia e enxertia em gravioleira**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Centro de Ciência Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2007.
- SÃO JOSÉ, A. R.; PIRES, M. M.; FREITAS, A. L. G. E.; RIBEIRO, D. P.; PEREZ, L. A. A. Atualidades e perspectivas das anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, edição especial, p. 86-93, 2014.
- SCALOPPI JUNIOR, E. J. **Propagação de espécies de Annonaceae com estacas caulinares**. 2007. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Jabotical, UNESP/FCAV, 2007.
- SCORE-SYNGENTA. **Fungicida score**. (Bula 2023). Disponível em: [https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2022/05/06/score\\_1.pdf](https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2022/05/06/score_1.pdf). Acesso: dezembro/2023.
- SHERRIFF, C.; WHELAN, M. J.; ARNOLD, G. M.; LAFAY, J. F.; BRYGOO, Y.; BAILEY, J. A. Ribosomal DNA sequence analysis reveals new species groupings in the genus *Colletotrichum*. **Experimental Mycology**, v. 18, n. 2, p. 121- 138, 1994.
- SHI, N.N.; RUAN, H.C.; JIE, Y.L.; CHEN, F.R. Characterization, fungicide sensitivity and efficacy of *Colletotrichum* spp. from chili in Fujian, China. **Crop Protection**, v. 143, 2021.
- SIEM - **Sistema de Informação e Estatística de Mercado da Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo**. São Paulo: CEAGESP, 2022.

- SILVA-JUNIOR, G. J.; BEHLAU, F.; Controle químico. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. B. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. v.1, 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018, p.561.
- SILVA JÚNIOR, M. C. (org.). **100 Árvores do Cerrado**: sentido restrito. Brasília: Rede de Sementes do Serrado, 2012. 304 p.
- SILVA, E. E.; ALBUQUERQUE, E. E. B.; ROCHA, T. C. S.; SANTOS, M.; SILVA, C. B.; SILVA, R. C. C.; SILVA, K. B.; COSTA, J. G. Estudo fitossociológico da comunidade infestante no pomar de pinha (*Annona squamosa* L.) no Município de Rio Largo–Alagoas. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 5, n. 1, 9435 p., 2020.
- SILVA, J. C. G. et al. A influência da cobertura morta sobre características físicas e químicas de frutos da pinha (*Annona squamosa* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.29, n.2, p. 287-291, 2007.
- SILVA, J. L.; LOPES, L. E. M.; SILVA-CABRAL, J. R.; COSTA, J. F. O.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. *Colletotrichum* species associated with anthracnose in passion fruit in Brazil. **Diversitas Journal**, v. 7, n. 3, p. 1205-1224, 2022.
- SIQUEIRA, C. A. T.; OLIANI, J.; SARTORATTO, A.; QUEIROGA, C. L.; MORENO, P. R. H.; REIMÃO, J. O.; TEMPONE, A. G.; FISCHER, D. C. H. Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and *in vitro* antiprotozoal activity **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 21, n.1, p. 33-40, 2011.
- SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A. E.; MILLS, P. R. DNA sequence variation and interrelationship among *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 41, n. 4, p. 265-281, 1992.
- SUTTON, B. C. The coelomycetes. **Commonwealth Mycological Institute**, London, p 696 p. 1980.
- SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. *In*: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. **Colletotrichum: biology, pathology and control**. CAB International: Wallingford, United Kingdom, p. 1-26, 1992.
- SYED AB RAHMAN S. F.; SINGH, E.; PIETERSE, C.; SCHENK, P.M. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. **Plant science**, v. 267, n. 102, 111p., 2018.
- TAKAHASHI, L. M. **Identificação de *Colletotrichum gloesporoides* de atemóia (*Annona cherimola* X *Annona squamosa*), por meio de caracterização patogênica, cultura e morfológica**. 2008. Dissertação (Mestrado- Faculdade de Ciências Agrônomicas) - Universidade Estadual Paulista Botucatu, 2008.
- TALAMINI, V.; STADINIK, M. J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. *In*: **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, p. 45-62, 2004.
- TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, hostrange and conservation status. **Fungal Diversity**, v. 110, p. 109–198, 2021.
- TALHINHAS, P.; SREENIVASAPRASAD, S.; NEVES-MARTINS, J.; OLIVEIRA, H.

Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. **Phytopathology**, v. 92, n. 9, p. 986-996, 2002.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; JACOBELIS, W.; TORTOLO, M. P. L. Fluxapirroxade associado à piraclostrobina, um novo aliado para o manejo de doenças fúngicas em cultivos de hortaliças, frutíferas e ornamentais. divulgação científica. **Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p. 1-11. 2016.

TOKUNAGA, T. **A cultura da atemoia**. Campinas: CATI, 2000. p. 80 il., (CATI. Boletim Técnico; 233).

TOZZE JUNIOR, H. J.; MELLO, B.A.; MASSOLA-JUNIOR, N.S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 77-79, 2006.

VIEIRA W. A. S.; BEZERRA P. A.; SILVA A. C.; VELOSO J. S.; CÂMARA M. P. S.; DOYLE V. P. Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. v. 143, 65 p., 2020.

VIEIRA, W. A. S.; LIMA, W. G.; NASCIMENTO, E. S.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S.; DOYLE, V. P. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with Musa. **Mycologia**, v. 109, n. 6, p.912-934, 2018.

VILLANUEVA-ARCE, R. Caracterización e identificación de *Colletotrichum fragariae* en frutos de chirimoya. **Agrociência**, v. 39, p.93-106, 2005.

VILLANUEVA-ARCE, R.; YÁÑEZ-MORALES, M.; HERNANDEZ-ANGUINANO, A. Espécies de *Colletotrichum* en chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). **Agrociência**, v. 42, n. 6, p. 689-701, 2008.

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

WORDEL, FILHO, J. A. Manejo ecológico de doenças de plantas em Santa Catarina. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Ed.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC, P. 31-46, 2004.

ZHANG, N.; CASTLEBURY, L. A.; MILLER, A. N.; HUHDORF, S. M.; SCHOCH, C. L.; SEIFERT, K. A.; ROSSMAN, A. Y.; ROGERS, J. D.; KOHLMAYER, J.; VOLKMANN-KOHLMEYER, B.; SUNG, G.H. An overview of the systematics of the Sordariomycetes based on four-gene phylogeny. **Mycologia**, v. 98, n. 6, p. 1076-1087, 2006.

ZHANG, Q.; HUA, X. D.; SHI, H. Y.; LIU, J. S.; TIAN, M. M.; and WANG, M. H. Enantioselective bioactivity, acute toxicity and dissipation in vegetables of the chiral triazole fungicide flutriafol. **Journal of Hazardous Materials**, v. 284, p. 65–72, 2015.

ZUBAIDI, S. N. et al. *Annona muricata*: Comprehensive Review on the Ethnomedicinal, Phytochemistry, and Pharmacological Aspects Focusing on Antidiabetic Properties. **Life**, v. 13, n. 2, 353p, 2023.

## CAPÍTULO I

---

**IDENTIFICAÇÃO E PATOGENICIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum*  
ASSOCIADAS A ANTRACNOSE EM ANONÁCEAS NO BRASIL.**

## RESUMO

A produção de anonáceas apresenta importância econômica para o Brasil, com destaque para a região nordeste. No entanto, estas culturas são atacadas por diversas doenças fúngicas, dentre elas destaca-se a antracnose, que se apresenta com maior incidência durante o período chuvoso, representando um grande obstáculo para a expansão destas culturas. A antracnose é causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, provocando lesões em folhas, ramos, flores e frutos, assim como, o abortamento de flores e queima de ponta de ramos. Portanto, a correta identificação do agente etiológico é essencial para determinar as estratégias de manejo e controle adequado. O objetivo do estudo foi identificar as espécies de *Colletotrichum* associadas à atemoleira, gravioleira e pinheira, por meio de características morfoculturais e o uso de ferramentas moleculares, bem como avaliar teste de patogenicidade dos isolados e a patogenicidade cruzada dos isolados de *Colletotrichum theobromicola*. Para a obtenção dos isolados fúngicos de *Colletotrichum* foram realizadas coletas de folhas e frutos de atemoleira, gravioleira e pinheira apresentando sintomas típicos da doença em plantios comerciais nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará e Pernambuco. Em seguida, foram realizados estudos morfológicos, culturais e testes de patogenicidade em plantas assintomáticas. A análise inicial das sequências parciais do gene *GAPDH* foi realizada com quarenta e oito isolados de *Colletotrichum*, sendo estes agrupados no complexo *gloeosporioides*. Para confirmar as espécies identificadas com o gene *GAPDH*, onze isolados foram selecionados e submetidos a análises filogenéticas concatenadas com os genes (*GAPDH*, *TUB2*, *ApMat*) e região ITS do rDNA. As espécies *C. theobromicola*, *C. fructicola* e *C. tropicale* estão associadas à antracnose em pinheira, gravioleira e atemoleira na região Nordeste do Brasil. Para o teste de patogenicidade cruzada as mudas de pinheira foram mais suscetíveis aos três isolados de *C. theobromicola*.

**Palavras-chave:** *Annona*; *Colletotrichum gloeosporioides*; Filogenia.

## 1. INTRODUÇÃO

A família *Annonaceae*, compreende aproximadamente 120 gêneros e cerca de 2.300 espécies, as quais estão classificadas em quatro subfamílias: Ambavioideae, Anaxagoreoideae, Annonoideae e Malmeoideae. No Brasil, essas subfamílias estão representadas com um total de 386 espécies, distribuídas em 29 gêneros (SOBRINHO, 2010; CHATROU et al., 2012; GONÇALVES et al., 2017).

A popularidade das anonáceas no Brasil é notável, sendo a pinheira (*Annona squamosa* L.), a gravioleira (*Annona muricata* L.) e a atemoleira (*Annona x atemoya* Mabb. ou *Annona squamosa* x *Annona cherimola*) as mais cultivadas. A área de produção dessas frutas é significativa: cerca de 5.000 hectares para a pinha, mais de 2.000 hectares para a graviola e aproximadamente 2.000 hectares para a atemoia (PEREIRA et al., 2019).

O cultivo da pinheira no Brasil é distribuído em vários estados, incluindo Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul e São Paulo, conforme mencionado pelo IBGE. No entanto, a Bahia destaca-se com a maior produção nacional, sendo mais de 82% de toda a área colhida no país, seguida pelos estados do Rio Grande do Norte e Alagoas (IBGE, 2019).

Os dados do Censo Agropecuário do IBGE indicam que a quantidade de pinha produzida no Brasil, em 2017, era de 8.753 toneladas de frutos, com 95% desse total referente à região Nordeste. Além disso, a predominância da região em relação à área plantada com pinha representava 97% do total, com 3.481 hectares, sendo o estado da Bahia corresponde com 72% dessa área (IBGE, 2017).

A gravioleira é explorada majoritariamente nas regiões Norte e Nordeste (BEZERRA; LEDERMAN, 2021). Segundo o Censo Agropecuário de 2017, a produção de *A. muricata* L. está fortemente concentrada no estado da Bahia. Enquanto à atemoia, ocorre principalmente em regiões de clima tropical, e atualmente seu cultivo está concentrado nos estados de São Paulo, norte do Paraná, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco. O interesse pela atemoia está crescendo, visando especialmente a comercialização dos frutos (BARON, 2014).

Essas informações evidenciam a importância econômica das anonáceas no Brasil, tanto para o mercado interno quanto para a exportação. O cultivo e a comercialização dessas frutas são impulsionados pelo interesse dos produtores devido à sua demanda e valor no mercado (QUEIROGA et al., 2023), contribuindo significativamente para a economia agrícola do país, no qual refletem a diversidade da produção brasileira e a capacidade de atender às demandas do mercado nacional e internacional.

A competitividade e a qualidade dos produtos agrícolas brasileiros são destaques no cenário global (QUEIROGA et al., 2023). No entanto, as culturas da atemoleira, gravioleira e pinheira no Brasil enfrentam diversos desafios relacionados a doenças, sendo a antracnose causada por *Colletotrichum* spp., uma das mais significativas. A antracnose é uma doença fúngica que afeta várias partes da planta, incluindo frutos, folhas e ramos e pode causar sérias perdas na produção (COSTA et al. 2019; BORGES et al., 2021).

No Brasil as espécies já relatadas como agentes causais da antracnose em anonáceas são: *C. karsti*, *C. gigasporum*, *C. fructicola* (COSTA et al., 2017, 2019), *C. gloeosporioides*, *C. siamense* (COSTA et al., 2019; SALINAS-CASTRO et al., 2020; BORGES et al., 2021), *C. theobromicola*, *C. tropicale*, *C. brevisporum* e *C. cliviicola* (COSTA et al., 2019) e *C. fioriniae* em Nova Zelândia (LIU et al., 2021). Esses estudos utilizaram análises filogenéticas, que apresentam informações da sequência de nucleotídeos de distintas regiões genômicas, provando ser uma ferramenta valiosa para uma identificação mais precisa das espécies dentro do gênero *Colletotrichum* (CANNON et al., 2012; WEIR et al., 2012; LIU et al., 2022).

As análises filogenéticas, quando combinadas com características morfológicas, fornecem uma abordagem mais robusta e confiável para a classificação das espécies (DAMM et al., 2019; COSTA et al., 2019; SILVA-CABRAL et al., 2020). Vale ressaltar ainda, que a morfologia das espécies de *Colletotrichum* pode ser altamente variável e, muitas vezes, não é suficiente para garantir uma identificação precisa. Devido a essa variabilidade, as caracterizações baseadas apenas em critérios morfológicos podem ser imprecisas, dificultando a distinção entre diferentes espécies (VIEIRA et al., 2020).

Assim, a fim de contribuir para o melhor entendimento da etiologia das espécies causadoras de antracnose que incidem sobre as culturas das anonáceas no Nordeste do Brasil, o objetivo do trabalho foi identificar espécies do gênero *Colletotrichum* associadas à atemoleira, gravioleira e pinheira, com base em análises de filogenia multi-locus, caracterização morfocultural e testes de patogenicidade.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos na Clínica fitossanitária e no Laboratório de fitopatologia e virologia molecular, do *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA/UFAL).

### 2.1. Obtenção e preservação dos isolados

Folhas e frutos de atemoleira, gravioleira e pinheira apresentando manchas de coloração pardo-escuro, com o centro mais claro, de contorno irregular, distribuídas por todo o limbo foliar, típico de antracnose foram coletadas em plantações localizadas nos Estados de Alagoas, Bahia, Ceará e Pernambuco, durante os anos 2022 e 2023.

O material vegetal foi previamente lavado em água corrente e secos em papel toalha. Uma lesão representativa de cada folha foi cortada na região de transição entre o tecido doente e o sadio. As amostras de tecido vegetal foram submetidas a um processo de desinfestação superficial para eliminar microrganismos indesejados que podem estar presentes na superfície. A desinfestação consistiu em lavagem com álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio a (1% v/v) por 1 minuto e duas lavagens em água destilada esterilizada (ADE), posteriormente, secas em papel filtro esterilizado e transferidos para placa de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA).

As placas com os fragmentos de tecido foram mantidas em temperatura ambiente até o surgimento das hifas fúngicas. Discos das bordas do micélio foram retirados e depositados em novas placas de Petri, contendo meio BDA, para formação das estruturas reprodutivas. Após a esporulação os isolados foram previamente identificados morfológicamente, como pertencentes ao gênero *Colletotrichum* de acordo com os trabalhos de Sutton, 1980, 1992; Weir, Johnston, Damm, 2012 e Damm et al., 2019.

Para a obtenção dos isolados monospóricos realizou-se a diluição seriada de uma suspensão de esporos de  $2 \times 10^6$  conídios/mL da concentração inicial, calibrada com o auxílio da câmara de Neubauer, em seguida uma alíquota de 20  $\mu$ L foi uniformemente distribuída em placas de Petri contendo meio de cultura ágar água (AA) e espalhados com uma alça de Drigalski. Após 24 horas, um único esporo germinado de cada isolado foi transferido para novas placas de Petri contendo meio BDA. Os isolados monospóricos foram preservados pelo método de Castellani (1967), tubos de eppendorf e em tubos de ensaio contendo meio BDA. Os estudos de caracterização molecular, morfológica, cultural, testes de patogenicidade e controle foram realizados a partir das culturas monospóricas.

## **2.2. Teste de patogenicidade dos isolados de *Colletotrichum* em folhas destacadas**

O teste de patogenicidade dos isolados de *Colletotrichum* foi realizado em folhas jovens assintomáticas do seu hospedeiro original (atemoleira, pinheira e gravioleira). Os isolados foram cultivados, por 7 dias, em meio BDA a  $26\pm 1^\circ\text{C}$  para favorecer a esporulação. Posteriormente, 10 ml de ADE foi adicionada a placa de Petri e realizada uma raspagem com alça de Drigalski para obter uma suspensão, na qual foi ajustada para  $2\times 10^6$  conídios/ml usando a câmara de Neubauer.

Após o ajuste da suspensão, 30  $\mu\text{L}$  da suspensão de esporos foi depositada sobre a superfície adaxial de cada folha com e sem ferimentos (os ferimentos foram realizados com auxílio de um alfinete esterilizado), compondo de 4 repetições para cada isolado. A testemunha compreendeu apenas por ADE. As folhas foram acondicionadas, separadamente, em gerbox contendo papel filtro esterilizado e umedecido com ADE para manter a umidade relativa do ar elevada e, assim, favorecer o desenvolvimento do patógeno. Os experimentos foram mantidos a  $25^\circ\text{C}$ , por sete dias.

## **2.3. Caracterização molecular**

### **2.3.1. Extração de DNA e amplificação por PCR**

Para caracterização molecular foram selecionados quarenta e oito isolados de acordo com as características fenotípicas e teste de patogenicidade. Na extração de DNA genômico, os isolados foram cultivados por sete dias em placas de Petri contendo meio BDA, posteriormente, três discos de BDA contendo as estruturas do patógeno foram transferidos para Erlenmeyer com capacidade de 50 mL, contendo 30 ml de meio de cultura Sacarose-Extrato de Levedura-Asparagina preparado de acordo com o protocolo de Zauza et al. (2007), para a obtenção da massa micelial dos isolados, durante sete dias. Transcorrido esse tempo, o micélio foi coletado, lavado em ADE, seco em papel filtro autoclavado, posteriormente, utilizado para a extração do DNA total, conforme o protocolo de Doyle & Doyle (1987).

A qualidade do DNA foi determinada por eletroforese, em gel de agarose 1% usando o corante azul de bromofenol e corados com brometo de etídeo, visualizado em transiluminador sob luz ultravioleta (UV) e fotografada em L-PIX-Chemi Loccus Biotecnologia®.

O DNA foi usado como molde para a amplificação por PCR das sequências parciais do gene que codifica para a proteína gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), usando o par de primers GDF1 e GDR1. Posteriormente, foram selecionados isolados do gênero *Colletotrichum*, representativos de cada clado formado na árvore filogenética com *GAPDH*,

para o sequenciamento com a região do espaçador interno transcrito ribossomal (ITS), do gene  $\beta$ -tubulina 2 (*TUB2*) e ApMat.

As condições de ciclagem da PCR para o gene *GAPDH* consistiram de desnaturação inicial a 95 °C por 4 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 62 °C por 30 s, 72 °C por 45 s e um ciclo final a 72 °C, durante 7 min. A temperatura de anelamento diferiu para TUB a 55 °C. Para a região ITS a condição de ciclagem da PCR consistiu de desnaturação inicial a 95 °C por 2 min, seguido de 38 ciclos a 95 °C por 1 min, 55 °C por 30 s, 72 °C por 45 s e um ciclo final a 72 °C, durante 10 min. Para o gene ApMat as condições de ciclagem da PCR consistiu numa desnaturação inicial a 95 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 62 °C por 45 s, 72 °C por 60 s e um ciclo final a 72 °C, durante 10 min.

As reações de PCR foram compostas por tampão 10X (3  $\mu$ L), MgCl<sub>2</sub> 50 mM (0,9  $\mu$ L), 10 mM DNTP (2,4  $\mu$ L), 10  $\mu$ M de cada oligonucleotídeo (2  $\mu$ L), 1U Taq DNA polimerase (0,2  $\mu$ L) e DNA (1  $\mu$ L) 25ng /  $\mu$ L) e 20,5  $\mu$ L de água deionizada esterilizada (Milli-Q). Os produtos de PCR foram visualizados sob luz UV, em gel de agarose a 1%, e corados em brometo de etídeo como agente intercalante de DNA. Os produtos de PCR foram enviados para sequenciamento na empresa ACTGene análises moleculares Brasil.

#### **2.4. Análises filogenéticas**

As sequências consenso foram montadas utilizando o software Staden Package. Estas foram inicialmente comparadas com o banco de dados de sequências do GenBank usando o algoritmo BLASTn para determinar as espécies com as quais compartilham maior identidade. Com base nos resultados da análise BLASTn, sequências de isolados tipos e outras referências de espécies de *Colletotrichum* disponíveis no GenBank para cada gene e região genômica foram obtidas para as análises filogenéticas.

Alinhamentos múltiplos de sequências foram preparados usando o algoritmo MUSCLE (EDGAR, 2004), implementado no software MEGA v.7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (TAMURA et al., 2011) para os conjuntos de dados. Foram construídas árvores filogenéticas de Inferência Bayesiana individuais e concatenados, com as sequências dos genes e região genômica, empregando o método da cadeia de Markov Monte Carlo, na web portal CIPRES (MILLER et al., 2010) usando MrBayes v. 3.2.3 (RONQUIST et al., 2012). O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado usando MrModeltest 2.3 (POSADA; BUCKLEY, 2004) de acordo com o Akaike Information Criterion.

## 2.5. Estudos morfoculturais das espécies de *Colletotrichum*

Para avaliar os caracteres morfológicos e culturais, um isolado representativo dos clados da árvore filogenética concatenada foi selecionado. Os isolados de *Colletotrichum* foram cultivados em meio BDA e incubados a temperatura ambiente durante 7 dias. Na caracterização cultural, um disco de 5mm de diâmetro retirado da borda da colônia foi depositado para o centro de novas placas de Petri de 90 mm de diâmetro, contendo 20 mL de meio BDA sintético e incubados em Biochemistry Oxygen Demand (BOD), sob temperatura de  $25 \pm 1$  °C e fotoperíodo de 12h. Após 7 dias, foram observados os aspectos e coloração das colônias, bem como o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), o qual foi determinada medindo diariamente o diâmetro das colônias (cm) tomado no reverso das placas em dois sentidos, com o auxílio de uma régua milimetrada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada isolado, sendo cada repetição composta por uma placa de Petri.

A caracterização morfológica e morfométrica dos conídios baseou-se no tamanho e forma de 50 conídios e de 50 apressórios de cada isolado, selecionados ao acaso de colônias com sete dias de crescimento. Lâminas de microscopia foram colocadas em placas de Petri forradas com papel filtro e autoclavadas. Posteriormente, foram adicionadas 30 µL de suspensão na concentração  $10^6$  conídios/mL<sup>-1</sup> sobre as lâminas e umedecido o papel com ADE e após 48 horas, o tamanho e forma dos apressórios foram observados.

Em seguida, as medidas de comprimento e largura de conídios e apressórios foram obtidas por meio de imagens capturadas por câmera digital (Olympus IX2-SLP) acoplada ao microscópio óptico (Olympus CKX41) com aumento de 400x e mensurados no software BELView (Versão 6.2.2.1).

## 2.6. Teste de patogenicidade cruzada de isolados de *Colletotrichum theobromicola* em mudas de anonáceas

Isolados representativos de *Colletotrichum theobromicola*, identificados por meio de Inferência Bayesiana baseados nas análises filogenética multi-locus dos genes  $\beta$ -tubulina (*TUB2*), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), e região intergênica dos genes *apn2* e *MAT1-2-1* (*ApMat*) e região do espaço interno transcrito (ITS) foram escolhidos para avaliar a capacidade patogênica cruzada em mudas de pinheira, gravioleira e atemoleira.

As mudas foram produzidas a partir de sementes obtidas de frutos maduros da cultivar crioula de pinheira, cultivar morada da gravioleira, e cultivar Gefner de atemoleira. Os frutos foram despulpados e suas sementes lavadas e secas em papel toalha, posteriormente, foi

colocada uma semente em cada saco plástico de polietileno (22x20cm), contendo solo misturado com matéria orgânica. As mudas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas a cada dois dias. Aos 90 dias foram utilizadas no experimento.

Os isolados de *C. theobromicola* foram cultivados em placas de Petri, contendo meio BDA e mantidos a temperatura ambiente, durante sete dias. Após esse período, discos de BDA contendo as estruturas do patógenos foram inoculados em folhas das mudas de seus respectivos hospedeiros originais e entre as culturas, ou seja, isolado proveniente de pinheira foi inoculado em gravioleira e atemoleira; isolado obtido de gravioleira inoculado em atemoleira e pinheira; isolado de atemoleira em gravioleira e pinheira.

As inoculações foram realizadas em oito folhas, cada folha contendo três repetições, sendo quatro folhas feridas, com auxílio de uma agulha estéril, quatro sem ferimentos. A testemunha foi constituída por mudas inoculadas apenas com discos de meio BDA, sem as estruturas do patógeno. A avaliação foi realizada aos sete dias, medindo o diâmetro da lesão (cm), em duas direções perpendiculares, no qual foi realizado o cálculo do diâmetro da lesão (DLE). O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições/planta.

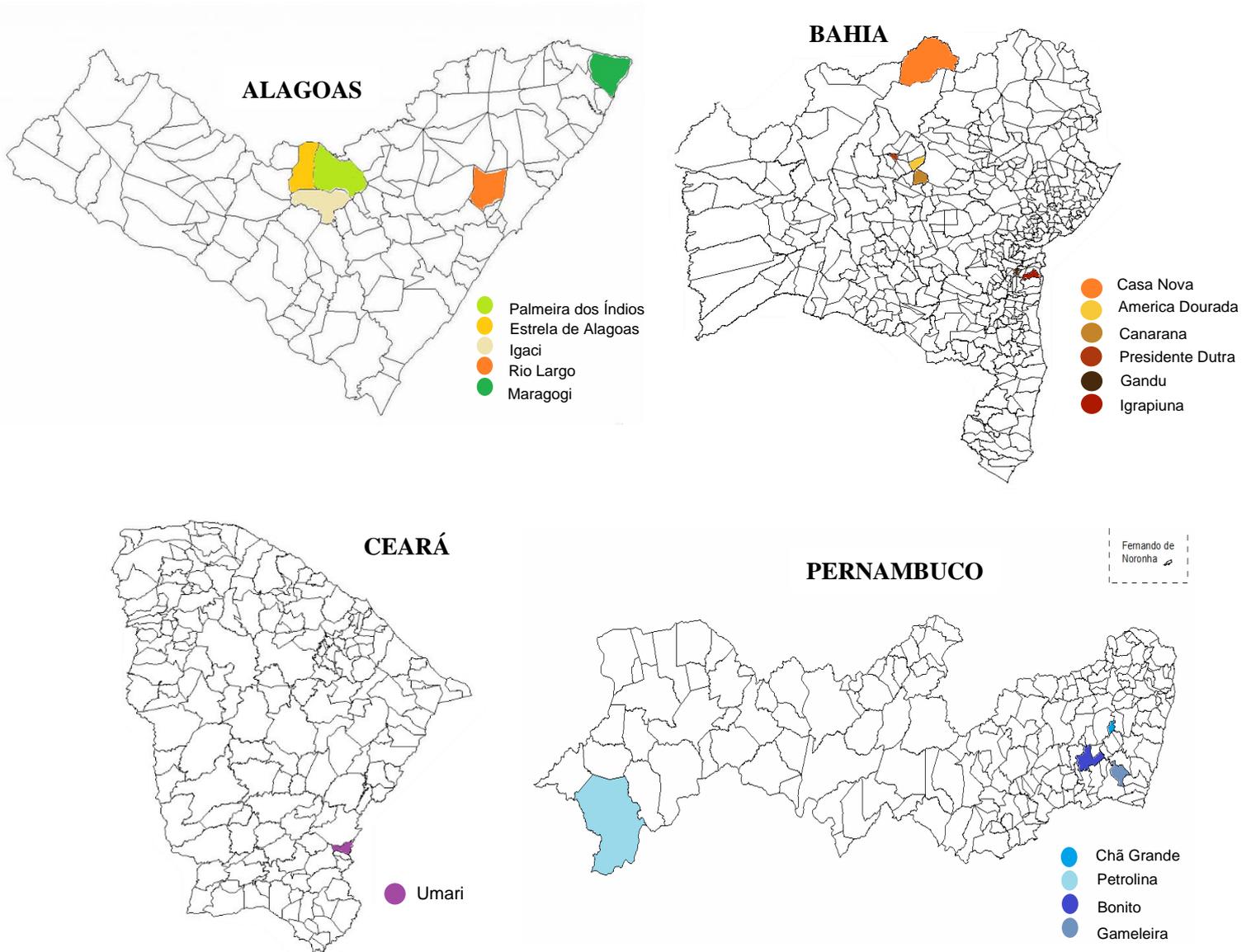
As plantas foram acondicionadas em uma estrutura envolta por plástico, com dois umidificadores, ligados a cada 12 horas, para manter a umidade relativa do ar elevada a fim de fornecer condições ideais de umidade e temperatura para iniciar os processos de germinação e penetração do patógeno nos tecidos do hospedeiro.

### 3. RESULTADOS

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

Um total de 183 isolados pertencentes ao gênero *Colletotrichum* associados a pinheira, atemoleira e gravioleira foram obtidos a partir de folhas e frutos, coletadas nos estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco e Ceará (Tabela 1, figura 1).

**Figura 1:** Mapa das áreas de coleta das amostras de atemoleira, gravioleira e pinheira.



Fonte: Autora, 2024

**Tabela 1.** Isolados de *Colletotrichum* obtidos de pinheira, atemoieira e gravioleira. Os isolados destacados foram enviados para sequenciamento na empresa ACTGene.

<b>Isolado</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>Local</b>	<b>Ano de coleta</b>	<b>Isolado</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>Local</b>	<b>Ano de coleta</b>
<b>1 BAP</b>	Pinha	Canarana-BA	2022	93 PEP	Pinha	Pernambuco	2022
<b>2 BAP</b>	Pinha	Canarana-BA	2022	94 PEP	Pinha	Pernambuco	2022
<b>3 BAP</b>	Pinha	Canarana-BA	2022	95 PEP	Pinha	Pernambuco	2022
<b>4 BAP</b>	Pinha	Canarana-BA	2022	96 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
<b>5 BAP</b>	Pinha	Canarana-BA	2022	97 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
<b>6 BAP</b>	Pinha	Canarana-BA	2022	98 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
<b>7 BAP</b>	Pinha	Canarana-BA	2022	99 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
<b>8 PEP</b>	Pinha	Petrolina-PE	2022	100 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
<b>9 PEP</b>	Pinha	Petrolina-PE	2022	<b>101 ALA</b>	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
10 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022	<b>102 ALA</b>	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>11 PEP</b>	Pinha	Petrolina-PE	2022	<b>103 ALA</b>	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>12 ALP</b>	Pinha	Rio Largo-AL	2022	<b>104 ALA</b>	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>13 ALP</b>	Pinha	Rio Largo-AL	2022	<b>105 ALA</b>	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
14 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022	<b>106 ALA</b>	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
15 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas	2022	<b>107 ALA</b>	Atemoia	Maragogi-AL	2022
<b>16 ALP</b>	Pinha	Estrela de Alagoas	2022	<b>108 ALA</b>	Atemoia	Maragogi-AL	2022
17 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas	2022	109 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
<b>18 ALP</b>	Pinha	Estrela de Alagoas	2022	<b>110 ALA</b>	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>19 ALP</b>	Pinha	Estrela de Alagoas	2022	111 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>20 ALP</b>	Pinha	Igaci-AL	2022	112 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
21 ALP	Pinha	Igaci-AL	2022	113 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
22 ALP	Pinha	Igaci-AL	2022	114 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>23 ALP</b>	Pinha	Igaci-AL	2022	115 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>24 BAP</b>	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	116 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>25 ALP</b>	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022	117 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
26 BAP	Pinha	Casa Nova-BA	2022	118 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>27 ALP</b>	Pinha	Estrela de Alagoas	2022	119 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>28 ALP</b>	Pinha	Estrela de Alagoas	2022	120 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
29 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022	121 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>30 ALP</b>	Pinha	Maceió - Alagoas	2022	122 ALA	Atemoia	Maragogi-AL	2022

<b>31 BAP</b>	Pinha	Canarana-BA	2022	123 ALA	Atemoia	Maragogi-AL	2022
32 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022	124 ALA	Atemoia	Maragogi-AL	2022
33 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022	125 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
34 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022	126 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
35 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022	127 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
36 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022	128 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
37 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022	129 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
38 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022	130 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
39 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	131 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
40 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	132 PEA	Atemoia	Petrolina-PE	2022
41 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	133 BAA	Atemoia	Casa Nova- BA	2022
42 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	134 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
43 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	135 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
44 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	136 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
45 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	137 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
46 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	138 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
47 BAP	Pinha	Presidente Dutra-BA	2022	139 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
48 BAP	Pinha	América Dourada-BA	2022	140 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
49 BAP	Pinha	América Dourada-BA	2022	141 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
50 BAP	Pinha	América Dourada-BA	2022	142 PEP	Pinha	Petrolina-PE	2022
51 PEG	Graviola	Gameleira-PE	2022	143 ALP	Pinha	Maceió -AL	2022
<b>52 PEG</b>	Graviola	Gameleira-PE	2022	144 ALP	Pinha	Maceió -AL	2022
<b>53 ALG</b>	Graviola	Maragogi-AL	2022	145 ALP	Pinha	Maceió -AL	2022
<b>54 ALG</b>	Graviola	Maragogi-AL	2022	146 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
<b>55 ALG</b>	Graviola	Maragogi-AL	2022	147 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
<b>56 ALG</b>	Graviola	Maragogi-AL	2022	148 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
57 ALG	Graviola	Maragogi-AL	2022	149 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
<b>58 ALG</b>	Graviola	Maragogi-AL	2022	150 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
<b>59 BAG</b>	Graviola	Gandu-BA	2022	151 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
<b>60 BAG</b>	Graviola	Gandu-BA	2022	152 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
<b>61 BAG</b>	Graviola	Igrapiúna-BA	2022	153 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
<b>62 ALG</b>	Graviola	Maragogi-AL	2022	154 ALP	Pinha	Rio Largo-AL	2022
<b>63 BAG</b>	Graviola	Igrapiúna-BA	2022	155 ALP	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022
<b>64 BAG</b>	Graviola	Gandu-BA	2022	156 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
<b>65 ALG</b>	Graviola	Maragogi-AL	2022	157 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
66 PEG	Graviola	Gameleira-PE	2022	158 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
67 PEG	Graviola	Gameleira-PE	2022	159 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
68 ALG	Graviola	Maragogi-AL	2022	160 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022

69 ALG	Graviola	Maragogi-AL	2022	161 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
70 ALG	Graviola	Maragogi-AL	2022	162 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
71 ALG	Graviola	Maragogi-AL	2022	163 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
72 ALG	Graviola	Maragogi-AL	2022	164 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
73 ALG	Graviola	Maragogi-AL	2022	165 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
74 ALG	Graviola	Maragogi-AL	2022	166 ALP	Pinha	Estrela de Alagoas-AL	2022
75 ALG	Graviola	Estrela de Alagoas	2022	<b>4 CEP</b>	Pinha	Umari-CE	2023
76 ALG	Graviola	Estrela de Alagoas	2022	168 ALP	Pinha	Igaci-AL	2022
77 ALG	Graviola	Estrela de Alagoas	2022	169 ALP	Pinha	Igaci-AL	2022
78 ALG	Graviola	Rio Largo-AL	2022	170 ALP	Pinha	Igaci-AL	2022
79 ALG	Graviola	Gandu-BA	2022	171 ALP	Pinha	Igaci-AL	2022
80 BAG	Graviola	Gandu-BA	2022	172 ALP	Pinha	Igaci-AL	2022
1 CEG	Graviola	Umari-CE	2023	<b>3 CEP</b>	Pinha	Umari-CE	2023
<b>2 CEP</b>	Graviola	Umari-CE	2023	174 ALP	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022
83 BAP	Pinha	América Dourada-BA	2022	175 ALP	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022
84 BAP	Pinha	Bahia	2022	176 ALP	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022
85 BAP	Pinha	Casa Nova-BA	2022	177 ALA	Atemoia	Palmeira dos Índios-AL	2022
86 BAP	Pinha	Casa Nova-BA	2022	178 ALP	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022
87 BAP	Pinha	Casa Nova-BA	2022	179 ALP	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022
88 PEP	Pinha	Pernambuco	2022	180 ALP	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022
89 PEP	Pinha	Pernambuco	2022	181 ALP	Pinha	Palmeira dos Índios-AL	2022
90 PEP	Pinha	Pernambuco	2022	182 ALP	Pinha	Maceió -AL	2022
91 PEP	Pinha	Pernambuco	2022	183 BAP	Pinha	Canarana-BA	2022
92 PEP	Pinha	Pernambuco	2022				

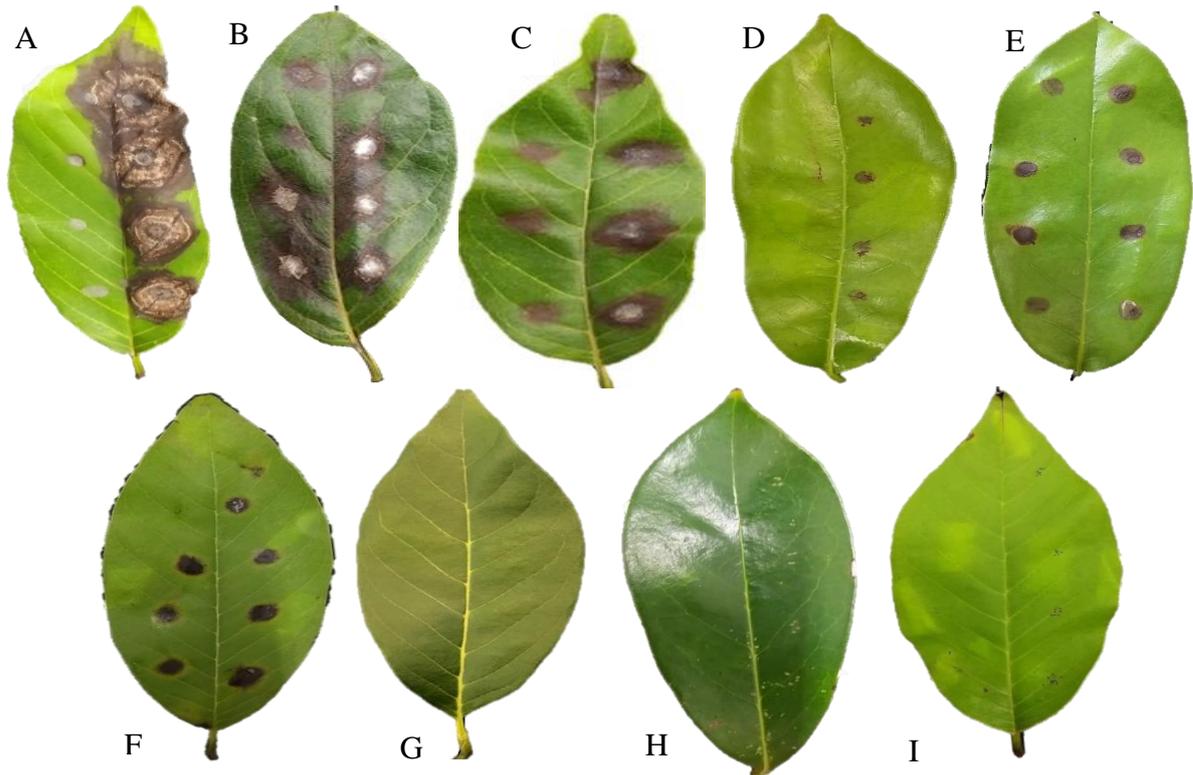
Fonte: Autora, 2024

### 3.2. Teste de patogenicidade dos isolados de *Colletotrichum* em folhas destacadas.

Os isolados representativos de cada clado da árvore filogenética foram patogênicos aos seus hospedeiros originais, observando a ocorrência de manchas necróticas, de coloração marrom-escura e com tamanhos variáveis na superfície das folhas com ferimento, típicos da doença antracnose, em um período que variou de dois a três dias, após a inoculação (Figura 4). A maioria dos isolados não apresentou sintomas nas folhas sem ferimento, nenhum sintoma foi observado nas testemunhas (Figura 4).

O isolado 2BAP induziu a maior lesão (2,3 cm), enquanto que o isolado 58ALP apresentou a menor lesão (0,63 cm) em folhas destacadas, havendo diferença na severidade dos sintomas para os demais isolados (Figura 2 e Tabela 2).

**Figura 2:** Teste de patogenicidade em folhas destacadas com e sem ferimento. Folhas de pinha: Isolado 2 BAP (A), 12 ALP (B) e 19 ALP (C); Isolado 58 ALG (D) e 61 BAG (E) em folhas de graviola; Isolado 102 ALA em folhas de atemoia (F); Testemunha de pinha (G), graviola (H) e atemoia (I).



Fonte: Autora, 2024

**Tabela 2:** Diâmetro das lesões dos isolados de *Colletotrichum* associadas à antracnose das anonáceas em folhas destacadas.

Isolados	Diâmetro da lesão (cm)
2 BAP	<b>2,30</b> (1,7 – 2,8)
61 BAG	<b>0,80</b> (0,6 – 1,0)
19 ALP	<b>0,93</b> (0,6 – 1,4)
58 ALG	<b>0,63</b> (0,2 - 0,3)
12 ALP	<b>0,87</b> (0,9 – 1,0)
102 ALA	<b>0,70</b> (0,5 – 0,9)

Fonte: Autora, 2024

### 3.3. Caracterização molecular dos isolados de *Colletotrichum*.

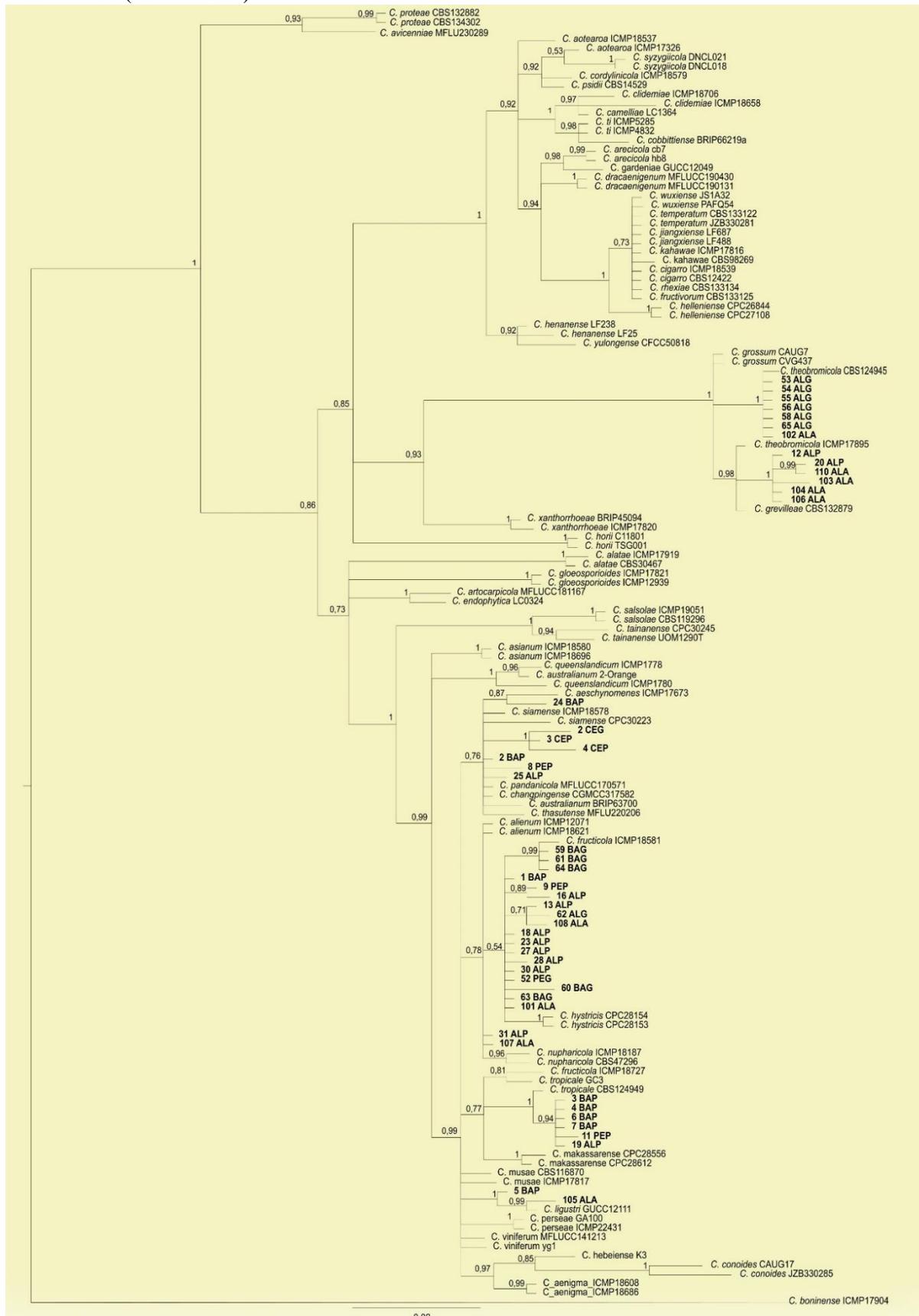
A análise inicial das sequências parciais do gene gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (*GAPDH*) foi realizada com quarenta e oito isolados de *Colletotrichum*, que representavam maior diversidade de características fenotípicas, espécie hospedeira, região geográfica de origem e agressividade, em relação ao teste de patogenicidade, com a finalidade de uma identificação preliminar das espécies de *Colletotrichum*.

A pesquisa BLAST dos isolados no banco de dados GenBank, juntamente com a árvore filogenética de Inferência Bayesiana, utilizando o gene *GAPDH*, permitiu a delimitação das espécies, no complexo *Colletotrichum gloeosporioides*. Os clados foram previamente definidos, indicando a presença de três espécies de *Colletotrichum*: *C. theobromicola* reconhecida como a espécie mais prevalente em gravioleira (2/14), seguida de atemoleira (5/9). *C. tropicale* (6/25) associada apenas à cultura da pinheira e *C. fructicola* (3/14) provenientes de gravioleira. Os demais isolados (32/50) estão em clados não definidos preliminarmente (Figura 3).

Onze isolados representativos, da árvore filogenética com o gene *GAPDH*, foram utilizados para análise multi-locus com os genes *GAPDH*, *ApMat* e *TUB2* e região ITS do rDNA, confirmando a posição taxonômica dos isolados (Figura 4).

Com isso, permitiu agrupar os isolados 12 ALP, 58 ALG e 102 ALA, próximo a espécie *Colletotrichum theobromicola*, esses isolados foram provenientes de plantios comerciais de pinheira, gravioleira e atemoleira do estado de Alagoas. Os isolados 3BAP (Pinheira/Bahia) e 19 ALP (Pinheira/Alagoas) agruparam-se com a espécie *C. tropicale*. Quatro isolados (9 PEP, 18 ALP, 61 BAG e 108 ALA) estão em um ramo próximo à espécie *C. fruticola*, sendo obtidos das três culturas dos estados de Pernambuco, Alagoas e Bahia. Os isolados 25 ALP e 2 BAP agruparam-se em um clado próximo às espécies *C. siamense*, *C. australianum*, *C. pandanicola*, *C. changpingense* e *C. thasutense* (Figura 3).

**Figura 3.** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana do complexo *Colletotrichum gloeosporioides* baseada nas sequências parciais do gene gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH). Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum boninense* (ICMP17904).



**Figura 4.** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana utilizando GAPDH, TUB2, ApMat e região ITS para espécies do complexo *Colletotrichum gloeosporioides*. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum boninense* (ICMP17904).



### 3.4. Estudos morfoculturais das espécies de *Colletotrichum*.

As características culturais das colônias, dos isolados dentro do complexo *C. gloeosporioides*, apresentaram heterogeneidade em relação a coloração do micélio variando de cinza, branco acinzentado e branco alaranjado no centro, cotonosos, bordas irregulares e regulares, sem estrias, com e sem setores (Tabela 3).

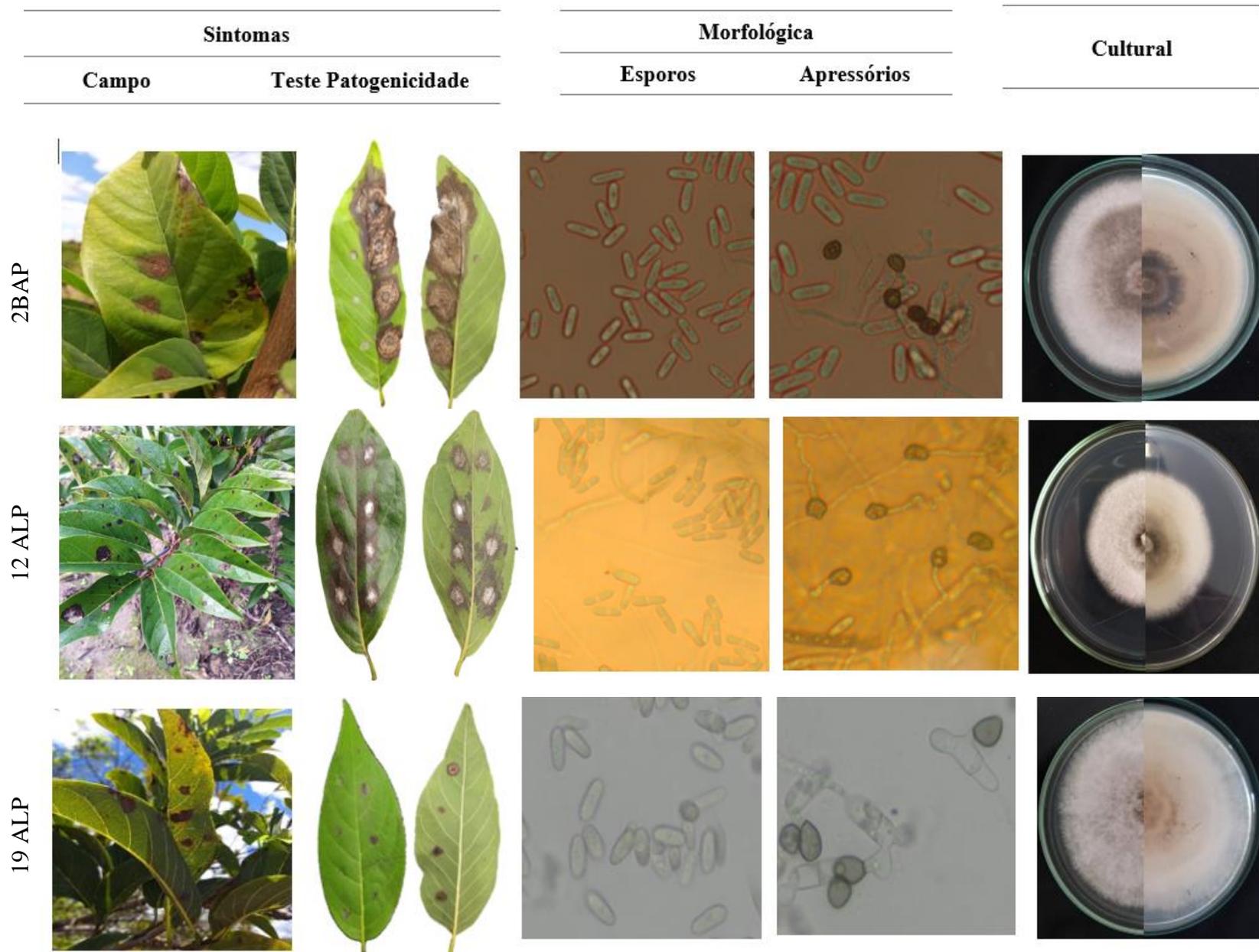
A variação no índice de velocidade de crescimento médio das colônias dentro do complexo foi de 0,8 a 1,4 mm.dia<sup>-1</sup>. Os conídios apresentaram-se hialinos, não septados, cilíndricos com pontas arredondadas. O comprimento médio dos conídios variou entre 7,72 e 11,92 µm e largura média de 2,5 e 4,49 µm. Os apressórios apresentaram cor predominantemente marrom escuro, com formato irregular e o comprimento médio variou de 4,24 e 6,82 µm e a largura média de 3,36 a 4,80 µm (Tabela 3 e Figura 5).

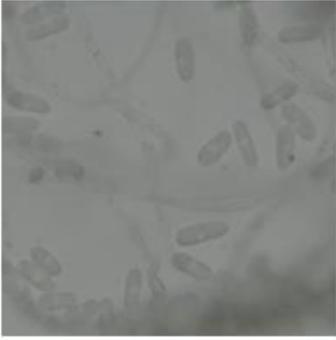
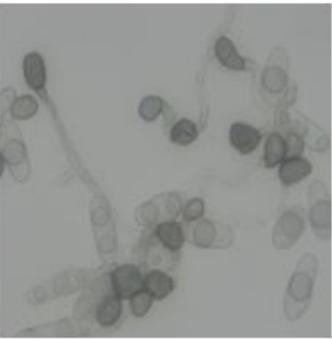
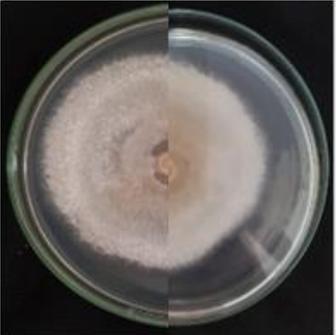
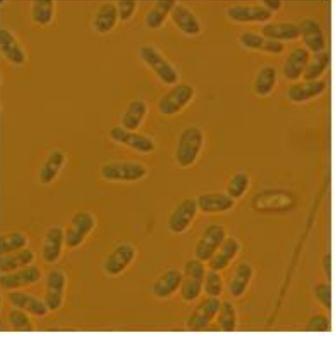
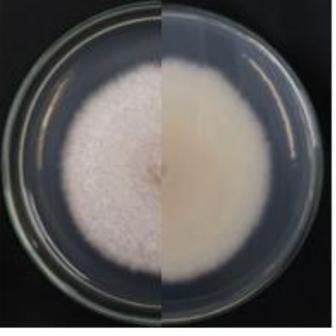
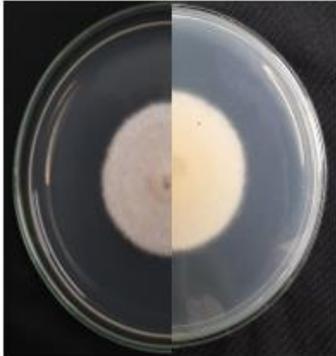
**Tabela 3.** Características morfológicas e culturais de isolados do gênero *Colletotrichum*, representativos de cada clado referente à árvore filogenética multi-locus.

Isolados	Conídios (µm)		Apressórios (µm)		Crescimento micelial (mm/dia)	Colônias
	Comprimento	Largura	Comprimento	Largura		
102 ALA	<b>9,01</b> (11,25-6,80)	<b>2,5</b> (3,62-2,1)	<b>4,9</b> (7,79-3,28)	<b>3,8</b> (4,66-2,95)	<b>0,8</b>	Coloração branca, micélio cotonoso, borda regular.
58 ALG	<b>10,54</b> (12,57-7,89)	<b>4,04</b> (5,55-2,5)	<b>6,87</b> (7,97-4,92)	<b>4,8</b> (5,97-3,61)	<b>1,3</b>	Coloração branca, com centro de coloração salmão, micélio ralo, com borda irregular.
19 ALP	<b>11,30</b> (12,72-10,24)	<b>4,49</b> (5,16-3,85)	<b>5,30</b> (7,73-3,98)	<b>4,03</b> (4,64-3,10)	<b>1,4</b>	Coloração branco-alaranjado, centro rosa, micélio cotonoso, com borda branca e regular.
2 BAP	<b>11,92</b> (15,76-6,54)	<b>3,90</b> (5,00-3,33)	<b>4,24</b> (6,01-3,26)	<b>3,36</b> (4,01-2,22)	<b>1,3</b>	Coloração branco-cinza claro com setores, micélio ralo, com borda regular.
12 ALP	<b>8,15</b> (10,72-6,48)	<b>2,83</b> (3,38-1,80)	<b>4,74</b> (6,97-3,41)	<b>3,56</b> (4,44-3,05)	<b>0,9</b>	Coloração branco-cinza, com centro preto, micélio cotonoso, e borda regular.
61 BAG	<b>7,72</b> (9,04-6,09)	<b>3,35</b> (4,44-2,22)	<b>4,93</b> (6,63-2,83)	<b>3,49</b> (4,98-2,41)	<b>0,9</b>	Coloração branca, micélio ralo, e borda regular.

Fonte: Autora, 2024

**Figura 5:** Características morfo culturais dos isolados representativos de *Colletotrichum* e sintomas observados em campo e teste de patogenicidade em folhas destacadas de pinheira, gravioleira e atemoleira.



	Sintomas		Morfológica		Cultural
	Campo	Teste Patogenicidade	Esporos	Apressórios	
58 ALG					
61 BAG					
102ALA					

### 3.5. Teste de patogenicidade cruzada dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* em mudas de anonáceas.

Sintomas típicos de antracnose foram observados entre o período de 48 e 72 h após a inoculação dos isolados de *C. theobromicola*. Inicialmente foram observados pequenos pontos de coloração marrom, à medida que a doença progredia as lesões aumentavam, tornando-se necróticas, deprimidas na superfície das folhas com ferimentos (Figura 6). Nas testemunhas não foram observados sintomas da doença.

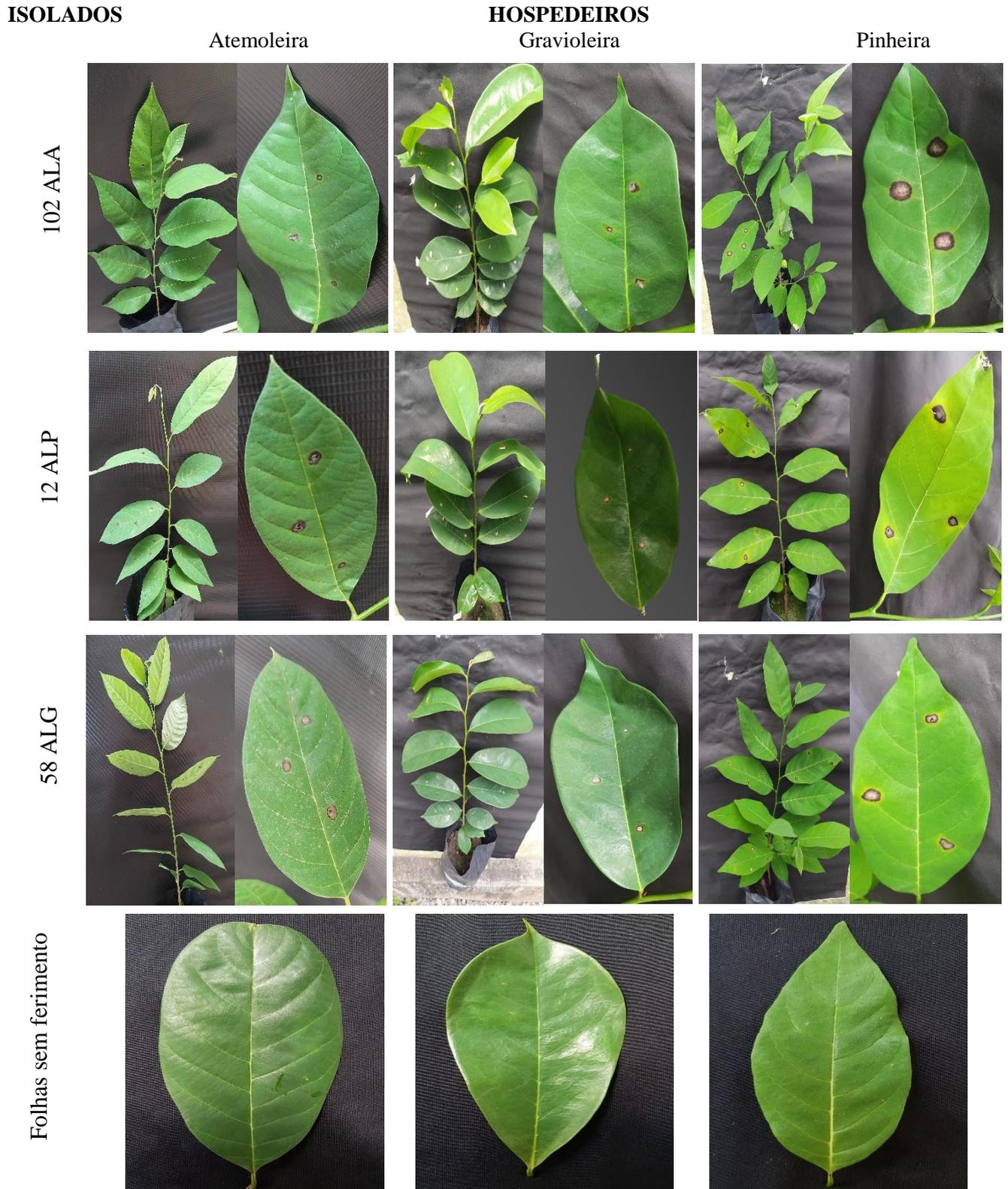
O isolado 102ALA (Alagoas/Atemoia) quando inoculado em mudas de pinheira, induziu a maior lesão (0,6 cm), enquanto que nas mudas de gravioleira e atemoleira (hospedeiro original), o diâmetro médio das lesões foi de 0,2 cm. O isolado 12 ALP (Alagoas/Pinha) demonstrou preferência pelo seu hospedeiro original, causando lesões de 0,4 cm, no entanto, em atemoleira e gravioleira as médias foram de 0,3 cm. Quando analisamos o isolado 58 ALG (Alagoas/Graviola), observamos uma menor lesão (0,2 cm), em comparação as lesões observadas em atemoleira e pinheira (0,3 cm), também não foi observado nenhum sintoma no teste sem ferimento (Tabela 4, Figura 5).

**Tabela 4:** Diâmetro das lesões dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* em mudas de anonáceas.

ISOLADOS	HOSPEDEIROS		
	Atemoleira	Pinheira	Gravioleira
Diâmetro médio da lesão (cm)			
102 ALA	<b>0,2</b> (0,1 – 1,3)	<b>0,6</b> (0,3 – 1,0)	<b>0,2</b> (0,1 – 0,6)
12 ALP	<b>0,3</b> (0,1 – 0,9)	<b>0,4</b> (0,3 – 0,9)	<b>0,3</b> (0,2 – 0,5)
58 ALG	<b>0,3</b> (0,1 – 0,7)	<b>0,3</b> (0,2 – 0,4)	<b>0,2</b> (0,1 -0,4)

Fonte: Autora, 2024

**Figura 6:** Teste de patogenicidade cruzada de isolados de *Colletotrichum theobromicola* em mudas de anonáceas.



#### 4. DISCUSSÃO

O gênero *Colletotrichum* é um grupo de fungos patogênicos que afeta uma ampla variedade de plantas, incluindo as anonáceas (AMORIM, 2011; JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014). Esses fungos podem causar doenças, como a antracnose, que é uma das principais preocupações dos produtores de gravioleira, atemoleira e pinheira no Brasil. Ao longo dos anos, vários estudos, têm sido conduzidos para investigar a prevalência, a diversidade genética e o impacto das espécies desse gênero nessas culturas, como o trabalho de Kamei et al. (2014); Costa, et al. (2019) e Câmara, et al., (2024), que proporcionaram, dados valiosos sobre a ecologia desses patógenos, incluindo os fatores que influenciam na dispersão, sobrevivência no ambiente e interação com as plantas hospedeiras.

O principal objetivo da pesquisa foi identificar espécies de *Colletotrichum* associadas à doença antracnose em anonáceas, nos plantios comerciais da região nordeste de Brasil, utilizando análises filogenéticas, morfoculturais e testes de patogenicidade. Ao identificar essas espécies pôde-se entender melhor a epidemiologia da doença, incluindo sua distribuição geográfica, prevalência e variabilidade genética, que são informações fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes, a implementação de práticas culturais adequadas e o uso racional de fungicidas.

Uma análise preliminar da filogenia foi empregada usando o gene *GAPDH* para os quarenta e oito isolados de *Colletotrichum* obtidos de folhas com sintomas de antracnose das culturas de atemoleira, gravioleira e pinheira, com o interesse principal de garantir a representatividade dos isolados a serem descritos como pertencentes à comunidade fúngica associada a essas culturas. O gene *GAPDH* tem sido utilizado, nos últimos anos, como medida inicial na identificação de espécies do gênero *Colletotrichum*, pois sua combinação com outros genes tem permitido distinguir de forma confiável a maioria dos táxons (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; LIMA et al., 2013; COSTA, 2014).

Essas medidas foram adotadas nos últimos anos, pois, inicialmente, pesquisas de identificação molecular eram utilizadas apenas com a região ITS-DNA, para espécies do gênero *Colletotrichum* (MILLS et al. 1992; SREENIVASAPRASAD et al. 1992). No entanto, com o passar do tempo foram observadas limitações, tendo a necessidade de uma abordagem polifásica que permite a resolução de ambiguidades originadas pelos métodos antigos de classificação e expandem a possibilidade de descobrir novas espécies em diferentes hospedeiros (VIEIRA et al., 2020; FERNÁNDEZ-HERRERA et al., 2020; SILVA et al., 2021; ASTOLFI et al., 2022).

Dessa maneira, as análises de filogenia multi-locus combinada aos dados morfoculturais e teste de patogenicidade revelaram algumas espécies dentro do complexo *C. gloeosporioides* associadas a antracnose em anonáceas. Três espécies foram identificadas: *C. fructicola*, *C. theobromicola* e *C. tropicale* e dois isolados não resolvidos. Algumas espécies deste complexo já tinham sido descritas em várias culturas de importância econômica ao redor do mundo (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; JAMES et al., 2014; RODRIGUES et al., 2014; VELOSO et al., 2018), incluindo as anonáceas (ÁLVAREZ et al., 2014; KAMEI et al., 2014; COSTA et al., 2017, 2019; CÂMARA, et al., 2024). Portanto, não é um fenômeno isolado observar a ocorrência de múltiplas espécies de *Colletotrichum* causando antracnose em *Annona* spp.

Dessa forma, é interessante observar a associação ampla de *C. theobromicola* em diversas espécies de anonáceas nas regiões de cultivo ao redor do mundo, incluindo Brasil, México, Panamá, Colômbia e Japão (VILLANUEVA-ARCE et al., 2008; ROJAS et al., 2010; ÁLVAREZ et al., 2014; COSTA et al., 2019; CAMÂRA et al., 2024). Essa espécie é conhecida por ser amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais e afeta uma ampla diversidade de hospedeiros (WEIR et al., 2012; ÁLVAREZ et al., 2014; KAMEI et al., 2014).

Em nossos estudos, *C. theobromicola* foi a espécie mais prevalente encontrada nos plantios de gravioleira e atemoleira no estado de Alagoas. Similarmente às nossas descobertas, Álvarez et al. 2014 e Costa et al., 2019, também, relataram essa prevalência em anonáceas, na Colômbia e no Brasil, respectivamente.

No Brasil, *C. theobromicola* foi relatado em frutos de carnaúba (*Copernicia prunifera*) (ARAÚJO et al., 2018), sapotizeiro (*Manilkara zapota*) no estado de Ceará (MARTINS, et al., 2018), em frutos de Romã (*Punica granatum*) (SILVA-CABRAL et al., 2020), maracujazeiro (*Passiflora edulis*) (SILVA et al., 2022), no estado de Alagoas.

*Colletotrichum fructicola* foi originalmente relatada como agente causal da doença dos frutos do café em *Coffea arabica* no norte da Tailândia (PRIHASTUTI et al., 2009) e como endófito foliar na América Central (ROJAS et al., 2010). Além disso, observa-se relatos em culturas de importância agrícola como: frutos de mamão (*Carica papaya* L.), pimenta (*Capsicum frutescens* L.) (PHOULIVONG et al., 2010), cacau (*Theobroma cacao* L.) (ROJAS et al., 2010; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; FUENTES-ARAGON et al., 2018), macieira e morango (*Fragaria vesca* L.) (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012), citrus (*Citrus* spp.) (PENG et al., 2012), frutos de uva (*Vitis vinifera*) (HUANG et al., 2013; PENG et al., 2013; ECHEVERRIGARAY et al., 2020) e em romã (SILVA-CABRAL et al., 2019, 2020).

No nordeste brasileiro, foi relatada sua presença em cladódios de *Nopalea cochenillifera* no estado de Pernambuco (CONFORTO et al., 2017), em maracujazeiro (SILVA et al., 2022), folhas de *Annona* spp. (COSTA et al., 2019) e atemoleira (CÂMARA et al., 2024) no Estado de Alagoas. Em nosso estudo, *C. fructicola* foi a segunda espécie mais prevalente causando antracnose em *Annona* spp., a partir das análises concatenadas.

*Colletotrichum tropicale* foi relatado em 2010 como um endófito em folhas de *Theobroma cacao* no Panamá (ROJAS et al., 2010). Estudos demonstram sua associação com diversas plantas cultivadas, ornamentais e nativas em todo o mundo, não demonstrando especificidade do hospedeiro (BARONCELLI, 2021; LIU et al. 2022). Esta espécie ocupa a décima posição do gênero *Colletotrichum* com maior número de hospedeiros, sendo relatada em associação com 31 hospedeiros como patogênica e/ou endofítico (TALHINHAS; BARONCELLI, 2021). Portanto, há relatos da ocorrência desta espécie associada à manga (*Mangifera indica* L.), pimentão (*C. annum*), pimentas (*Capsicum* spp.), pinha (*Annona squamosa*), graviola (*A. muricata*), no Brasil (LIMA et al., 2013; COSTA, 2014; SILVA et al., 2017. COSTA, 2019). Por outro lado, em nosso estudo observamos a presença desse patógeno apenas em pinheira, apesar de ser já ter sido relatada em plantios de gravioleira e pinheira (UDAYANGA et al., 2013; ÁLVAREZ et al., 2014; COSTA 2019). Ainda encontramos relatos de *C. tropicale* causando antracnose em *H. costaricensis*, no México e no Brasil, em 2023 (NUNEZ-GARCIA et al., 2023; MAYUMI et al., 2023).

A árvore filogenética de Inferência Bayesiana concatenada com os genes GAPDH, TUB2, ApMat e região ITS, não confirmaram a identificação dos isolados 25 ALP e 2 BAP, provenientes de pinheira dos estados de Alagoas e Bahia, respectivamente, ficando próximo as espécies *C. siamense*, *C. australianum*, *C. pandanicola* e *C. changpingense*. *Colletotrichum siamense* já foi relatado em *Annona reticulata* como um dos principais patógenos da doença (UDAYANGA et al., 2013). No Brasil, estudos apontam como patógeno em pinha, graviola (COSTA et al., 2019) e atemoia (CAMÂRA et al., 2024).

Os resultados do presente estudo estão alinhados com estudos anteriores, por exemplo, Álvarez et al. (2014) observaram a ocorrência da doença antracnose em diferentes partes da gravioleira, em plantios comerciais na Colômbia. Os autores destacam que as espécies do gênero *Colletotrichum* estão distribuídas em três complexos principais: *C. gloeosporioides* (incluindo *C. theobromicola*, *C. tropicale*, *C. siamense* e *C. gloeosporioides* stricto sensu), *C. boninense* (*C. karstii*) e *C. acutatum*. Esses complexos representam diferentes grupos de espécies dentro do gênero *Colletotrichum* e refletem a diversidade genética e a complexidade

da patogenicidade desses fungos. Assim, é convergente ao estudo de Costa (2019) e Talhinas; Baroncelli (2023).

Vale ressaltar que os isolados de atemoleira foram provenientes apenas de plantios de *Annona* spp. localizados no estado de Alagoas, sendo assim, a baixa prevalência das espécies de *Colletotrichum* em outros estados para essa cultura. Ainda reforçamos, a baixa representatividade de isolados dos estados da Bahia e Pernambuco, com isso, não correspondendo com a real situação das espécies que realmente estão presentes nos plantios comerciais, causando a doença antracnose.

As características morfoculturais das colônias, dos isolados de *Colletotrichum* do estudo, apresentaram uma ampla variação na coloração. Esses resultados estão convergentes com estudos anteriores conduzidos por vários autores, como Kamei et al. (2014), Damm et al. (2014), Balendres et al. (2020) e Silva-Cabral et al. (2020). Essa variação na coloração das colônias pode ser atribuída a diversos fatores, incluindo temperatura, condições de armazenamento e meio de cultura (MENEZES, 2002; COUTO; MENEZES, 2004). Vieira et al. (2018) e Khodadadi et al. (2020) destacaram a influência desses fatores na estabilidade e aspectos das colônias de fungos, incluindo espécies de *Colletotrichum*.

Os testes de patogenicidade mostram que os isolados selecionados do presente estudo causaram sintomas nas folhas de *Annona* spp. associadas à antracnose, corroborando os resultados visualizados por outros autores, que descrevem os sintomas de manchas de coloração pardo-escuras com centro claro, com formato irregular, e à medida que o tempo passa as essas lesões aumentam de tamanho (KAMEI et al., 2016; COSTA et al, 2019; SILVA et al., 2022; CÂMARA et al., 2024). Esses resultados indicam a capacidade patogênica dos isolados, assim também, são importantes para entender a epidemiologia da doença nas culturas específicas, e destacam a importância de compreender o desenvolvimento de estratégias de controle direcionadas as medidas preventivas específicas para cada cultura.

O fato de alguns isolados serem mais agressivos em hospedeiros diferentes do seu original, sugere que as espécies de *Colletotrichum* têm uma capacidade considerável de adaptação a novos ambientes e hospedeiros. Isso pode tornar o controle da antracnose mais desafiador, pois o patógeno pode rapidamente se ajustar a mudanças nas práticas de cultivo ou variações no clima.

Nossos estudos reforçam a importância da doença antracnose em plantios comerciais de anonáceas, evidenciando uma ampla distribuição geográfica das espécies de *Colletotrichum*. Além disso, contribui para uma compreensão mais ampla da interação entre esses patógenos e

suas plantas hospedeiras. Isso é fundamental para proteger a produção dessas culturas agrícolas importantes na região Nordeste do Brasil e em outras áreas de cultivo.

## **5. CONCLUSÕES**

As espécies *Colletotrichum theobromicola*, *C. fructicola* e *C. tropicale* estão presentes nas culturas de pinheira, atemoleira e gravioleira associadas à antracnose no Nordeste do Brasileiro.

Os isolados de *Colletotrichum theobromicola* têm a capacidade de ser patogênicos em diferentes espécies de anonáceas.

## REFERÊNCIAS

- ÁLVAREZ, E.; GAÑÁN, L.; ROJAS-TRIVIÑO, A.; MEJÍA, J. F.; LLANO, G. A.; GONZÁLEZ A. Diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species isolated from soursop in Colombia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 139, p. 325–338, 2014.
- ARAÚJO M. B. M.; LIMA, C. S.; FILHO, R. F. A. C; OOTANI, M. A.; BEZERRA, A. M. E.; CARDOSO, J. E. First Report of *Colletotrichum theobromicola* and *C. tropicale* Causing Anthracnose on Fruits of Carnauba Palm in Brazil. **Plant disease**, v. 102, n. 1, 244 p., 2017.
- ASTOLFI, P.; VELHO, A. C.; MOREIRA, V.; MONDINO, P.; ALANIZ, S. M.; STADNIK, M. J. Reclassification of the main causal agent of *Glomerella* leaf spot on apple into *Colletotrichum chrysophilum* in southern Brasil and Uruguay. **Phytopathology**, v. 112, n. 9, p. 1825-1832, 2022.
- BALENDRES, M. A.; MENDOZA, J. V.; CUEVA, F. D. Characteristics of *Colletotrichum musae* PHBN0002 and the susceptibility of popular banana cultivars to postharvest anthracnose. **Indian Phytopathology**, v. 73, p.57-64, 2020.
- BEZERRA, J. E.; LEDERMAN, I. E. Graviola. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacaotecnologica/territorios/territorio-mata-sul-pernambucana/atividades-economicas/cultivos/fruticultura/graviola>. Acesso em: 08 fev. 2024.
- BORGES R. C. F.; ROSSATO M; SANTOS M. D. M.; MACEDO M. A.; FONSECA, M. E. N.; BOITEUX, L. S.; REIS, A. *Colletotrichum siamense* as a causal agent of leaf anthracnose in seedlings of *Annona muricata* in nurseries from the Federal District, Brasil. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 128, p. 583–588, 2021.
- BRAGA-SOBRINHO, R. B. Potencial de exploração de anonáceas no Nordeste do Brasil. 17ª Semana da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria. **Embrapa Agroindústria Tropical**. Fortaleza-CE. 2010.
- CÂMARA, J. M. S.; COSTA, J. F. O.; LAURENTINO, J. S.; LIMA, T. S.; FERREIRA. T. S.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. *Colletotrichum* species associated with atemoya anthracnose in northeast Brazil. **Comunicata Scientiae**, v. 15, p. 1-12, 2024.
- CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum*— current status and future directions. **Studies Mycology**, v. 73, n.1, p. 181–213, 2012.
- CHATROU, L.W.; PIRIE, M. D.; ERKENS, R. H. J.; COUVREUR, T. L. P.; NEUBIG, K. M.; ABBOTT, J. R.; MOLS, J. B.; MASS, J. W.; SAUNDERS, R. M.K.; CHASE, M. W. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**. London, v. 169, n. 1, p. 5-40, 2012.
- CONFORTO, C.; BERNARDI, L. N.; GARCETE, G. J. M.; CÂMARA, M. P.S.; MICHEREFF, S. J. First report of *Colletotrichum siamense* and *C. fructicola* causing cladode brown spot in *Nopalea cochenillifera* in Brazil, Edizioni Ets; **Journal of Plant Pathology**, v. 99, n. 3, 11p. 2017.
- COSTA, J. F. de O. **Caracterização e epidemiologia comparativa de espécies de *Colletotrichum* em anonáceas no estado de Alagoas**. 2014. Tese (Doutorado em Proteção de

Plantas) – Universidade Federal de Alagoas (CECA), Rio Largo-AL., 2014.

COSTA, J. F. O.; KAMEI, S. H.; SILVA, J. R. A.; MIRANDA, A.R.S.; NETTO, M.B.; SILVA, S.J.C.; CORREIA, K.C.; LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P. Species diversity of *Colletotrichum* infecting *Annona* spp. in Brasil. *European Journal of Plant Pathology*, v. 153, p. 1119-1130, 2019.

COSTA, J. F. O.; RAMOS-SOBRINHO, R.; CHAVES, T. P.; SILVA, J. R. A.; PINHO D. B.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G.S.A. First Report of *Colletotrichum fructicola* causing anthracnose on *Annona* leaves in Brasil. *Plant Disease*, v. 101, n. 2, 2017.

COUTO, E.F., MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. *Fitopatologia Brasileira*. Brasília, v.29, n.4, p.406-412, 2004.

DAMM, U.; O'CONNELL, R. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum destructivum* species complex – hemibiotrophic pathogens of forage and field crops. *Studies in Mycology*, v. 79, p.49-84, 2014.

GONÇALVES, G. L. P.; DOMINGUES, V. C.; RIBEIRO, L. P. R.; FERNANDES, J. B.; FERNANDES, M. F. G; FORIM, M. R.; VENDRAMIM, J. D. Compounds from *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae) bioactive against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Industrial Crops and Products*, v. 97, p. 360–367, 2017.

HUANG, F.; CHEN, G. Q.; HOU, X.; FU, Y. S.; CAI, L.; HYDE, K. D.; LI, H. Y. *Colletotrichum* species associated with cultivated citrus in China. *Fungal Diversity*. v. 61, p. 61-74, 2013.

IBGE. 2016. Levantamento sistemático da produção agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. IBGE. Disponível em:<[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Levantamento\\_Sistematico\\_da\\_Producao\\_Agricola\\_%5Bmensal%5D/Fasciculo/lspa\\_201601.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_%5Bmensal%5D/Fasciculo/lspa_201601.pdf)>. Acesso em 18 fev. 2024.

JAMES, R. S.; RAY, J.; TAN, Y. P.; SHIVAS, R. G. *Colletotrichum siamense*, *C. theobromicola* and *C. queenslandicum* from several plant species and the identification of *C. asianum* in the Northern Territory, Australia. *Australasian plant disease notes*, v. 9 n. 1, p. 1-6, 2014.

KAMEI, S. H.; COSTA, J. F. O.; BRITO NETTO, M. S.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. Identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose de anonáceas no estado de Alagoas. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 36 ed. especial, p. 209-216, 2014.

KHODADADI, F.; GONZÁLEZ, J. B.; MARTIN, P. L.; GIROUX, E.; BILODEAU, G. J.; PETER, K. A.; DOYLE, V. P.; AĆIMOVIĆ, S. G. Identification and characterization of *Colletotrichum* species causing apple bitter rot in New York and description of *C. noveboracense* sp. nov. *Scientific Reports*, v. 10, p. 1-19, 2020.

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

2013.

LIU, F.; MA, Z. Y.; HOU, L. W.; DIAO, Y. Z.; WU, W. P.; DAMM, U.; SONG, S.; CAI, L. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. **Studies in Mycology**, v. 101, p. 1–56, 2022.

LIU B.; PAVEL J. A.; HAUSBECK M. K.; FENG C. D.; CORRELL J. C. Phylogenetic Analysis, Vegetative Compatibility, Virulence, and Fungal Filtrates of Leaf Curl Pathogen *Colletotrichum fioriniae* From Celery. **Phytopathology**, v. 111, n. 4, p. 751–760, 2021.

MARTINS, M. V. V.; LIMA, J. S.; ARAÚJO, F. S. A.; OOTANI, M. A.; VIANA, F. M. P.; CARDOSO, J. E.; COUTINHO, I. B. L.; GONÇALVES, F. J. T.; FONSECA, W. L.; First Report of *Colletotrichum theobromicola* causing leaf spot in sapote (*Manilkara zapota*) seedlings in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 12, p. 1-2, 2018.

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

MILLS, P. R.; SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A. E. Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates using PCR. **FEMS Microbiology Letters**, v. 98, p. 137-143, 1992.

PENG, L.; YANG, Y.; HYDE, K. D.; BAHKALI, A.; LIU, Z. *Colletotrichum* species on citrus leaves in Guizhou and Yunnan provinces, China. **Cryptogamie Mycologie**, v.33, n. 3, p. 267-283, 2012.

PEREIRA, M. C. T.; NIETSCHE, S.; SÃO JOSE, A. R.; LEMOS, E. E. P.; MIZUBUTSI, G. P.; CORSATO, C. F.; ALVARENGA, C. D. Anonáceas: Pinha (*Annona squamosa* L.), Atemóia (*Annona squamosa* x *Annona cherimola* Mill.) e graviola (*Annona muricata*). In: PAULA-JUNIOR, T. J.; VENZON, M. (Eds). **Culturas: manual de tecnologias agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2019, p. 111-123.

PHOULIVONG, S.; CAI, L.; CHEN, H.; MCKENZIE, E. H. C.; ABDELSALAM, K.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. **Fungal Diversity**, Indonésia, v. 44, p. 33-43, 2010.

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

RODRIGUES, A. L.; PINHO, D. B.; LISBOA, D. O.; NASCIMENTO, R. J.; PEREIRA, O. L.; ALFENAS, A. C.; FURTADO, G. Q. *Colletotrichum theobromicola* causes defoliation, stem girdling and death of mini-cuttings of eucalyptus in Brasil. **Tropical Plant Pathology**, v. 39, n. 4, p. 326-330, 2014.

ROJAS E. I.; REHNER S. A.; SAMUELS G. J.; VAN BAELE S. A.; HERRE E. A.; CANNON A.; CHEN R.; PANG J.; WANG R.; ZHANG Y.; PENG Y.; SHA T. *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.

SALINAS-CASTRO, A.; VIDAL-HERNÁNDEZ, L.; VIDAL-MARTÍNEZ N.A.; GARCÍA-

BARCENAS L. F.; YÁÑEZ-MORALES M. J. 2020 – First report of anthracnose lesions caused by *Colletotrichum siamense* on *Annona scleroderma* fruits in México. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, 261p., 2020.

SILVA, J. L.; LOPES, L. E. M.; SILVA-CABRAL, J. R.; COSTA, J. F. O.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. *Colletotrichum* species associated with anthracnose in passion fruit in Brazil. **Diversitas Journal**, v. 7, n. 3, p. 1205-1224, 2022.

SILVA, J. L.; SILVA, W. F.; LOPES, L. E. M.; SILVA, M. J. S.; SILVA-CABRAL, J. R. A.; COSTA, J. F. O.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. First Report of *Colletotrichum tropicale* Causing Anthracnose on *Passiflora edulis* in Brazil. **Plant disease**, v. 105, n. 11, p. 3761, 2021.

SILVA, J. R. A.; CHAVEZ, T. P.; SILVA, A. R. G.; BARBOSA, L. F.; COSTA, J. F. O.; SOBRINHO, R. R.; TEIXEIRA, R. R. O.; SILVA, S. J. C.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I.P. Molecular and Morpho-cultural Characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in Northeastern Brasil. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, p. 315-319, 2017.

SILVA-CABRAL J. R. A.; BATISTA L. R. L.; COSTA J. F. O; AMORIM E. P. R; LIMA G. S. A.; ASSUNÇÃO I. P. Three species of *Colletotrichum* are associated with anthracnose of pomegranate in Brasil. **Comunicata Scientiae**, v. 11, p. 1-4, 2020.

SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A. E.; MILLS, P. R. DNA sequence variation and interrelationship among *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 41, n. 4, p. 265-281, 1992

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

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

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

TUNDIS, R.; XIAO, J.; LOIZZO, M. R. *Annona* species (Annonaceae): A rich source of potential antitumor agents?. **Annals of the New York Academy Sciences**, v. 1398, n. 1, p. 30-36, 2017.

UDAYANGA, D.; MANAMGODA, D. S.; LIU, X.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits. **Fungal Diversity**, v. 61, p.165-179, 2013.

VELOSO J. S.; CAMARA M. P. S.; LIMA W. G.; MICHEREF S. J.; DOYLE V. P. Why species delimitation matters for fungal ecology: *Colletotrichum* diversity on wild and cultivated cashew in Brasil. **Fungal Biology**, v. 122, n.7, p. 677–691, 2018.

VIEIRA W.; BEZERRA, P. A.; SILVA, A. C.; VELOSO, J. S.; CÂMARA, M. P. S.; DOYLE, V. P. Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 143, 65p., 2020.

VIEIRA, W. A. S.; LIMA, W. G.; NASCIMENTO, E. S.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S.; DOYLE, V. P. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with Musa. **Mycologia**, v. 109, n. 6, p. 912-934, 2018.

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

## CAPÍTULO II

---

**SENSIBILIDADE DOS ISOLADOS DE *Colletotrichum theobromicola* A FUNGICIDAS.**

## RESUMO

A antracnose, causada por *Colletotrichum* spp., é uma doença de importância econômica para atemoleira, gravioleira e pinheira, por provocar lesões em diferentes órgãos da planta. Dado o impacto da antracnose nessas culturas, é essencial desenvolver estratégias eficazes de controle, combinando medidas preventivas e curativas. Diante disso, os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito dos fungicidas difenoconazole, piraclostrobina, flutriafol e a combinação de azoxistrobina + difenoconazol sobre o crescimento micelial de três isolados de *C. theobromicola*, assim como avaliar o efeito preventivo e curativo de azoxistrobina + difenoconazol em mudas de atemoleira, gravioleira e pinheira. No experimento *in vitro* utilizou-se o método de incorporação dos fungicidas ao meio de cultura BDA sintético (Batata-Dextrose-Ágar) para avaliar a inibição do crescimento micelial dos isolados. Nesse método, os fungicidas foram incorporados ao meio BDA, nas concentrações de 50, 75 e 100 µg de i.a. ml<sup>-1</sup> do fungicida Difenoconazole; do Piraclostrobina foram: 75, 100 e 125 µg de i.a. ml<sup>-1</sup>; para Flutriafol as concentrações de: 200, 375 e 550 µg de i.a. ml<sup>-1</sup> e Azoxistrobina + Difenoconazol: 100, 162,5 e 225 µg de i.a. ml<sup>-1</sup>. Posteriormente, discos de meio BDA contendo as estruturas do patógeno foram inoculados nas placas contendo o meio suplementando com fungicida. As placas foram incubadas em câmara do tipo B.O.D., a 25 ± 1°C no escuro e as placas eram mensuradas diariamente, no período de sete dias. Para avaliar a eficácia dos fungicidas nos diferentes tratamentos, foram estimados dois parâmetros importantes: o Índice de Crescimento Micelial (IVCM) e a Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial (PIC). Para avaliar o efeito preventivo e curativo de azoxistrobina + difenoconazol na concentração de 162,5 µg L<sup>-1</sup> foram utilizadas mudas assintomáticas de atemoleira, gravioleira e pinheira. No tratamento curativo, as mudas foram inicialmente inoculadas com discos de BDA contendo o patógeno, e, após dois dias, foi realizada a pulverização do fungicida. No tratamento preventivo, o fungicida foi pulverizado nas mudas, e, após um intervalo de 48 horas, foram inoculados discos contendo as estruturas fúngicas dos isolados. Ao décimo quarto dia, os tratamentos foram avaliados medindo-se o diâmetro das lesões causadas pelo patógeno. No experimento *in vitro*, todos os fungicidas foram eficientes na redução do crescimento micelial dos isolados de *C. theobromicola*. No experimento *in vivo*, o tratamento preventivo obteve o melhor resultado no controle da antracnose em mudas de anonáceas.

**Palavras-chave:** *Annona*; Controle; Estrobilurinas; Triazóis.

## 1. INTRODUÇÃO

As anonáceas têm ganhado destaque no mercado global de frutas, tanto *in natura* quanto processadas, devido ao seu sabor único, valor nutricional e potencial para aplicações medicinais. A gravioleira, pinheira e atemoleira são algumas das espécies mais populares dentro dessa família (INOUE et al., 2009; LEMOS, 2014; SILVA et al., 2015). No entanto, essas culturas vêm enfrentando uma série de doenças, principalmente, a antracnose, considerada de elevada importância econômica no Nordeste do Brasil, devido as grandes perdas na produção (LEMOS et al., 2014; COSTA et al., 2019; FISCHER et al., 2019) e tem como agente causal espécies do gênero *Colletotrichum* (JOHNSTON; DAMM, 2012; JAMES et al., 2014; RODRIGUES et al., 2014; COSTA, et al., 2017; 2019; WEIR; VELOSO et al., 2018).

A busca de tecnologias torna-se necessária para o aumento da produção agrícola, com o objetivo de combater as doenças, e o uso de produtos químicos é a tecnologia mais utilizada até o momento (GHINI; KIMATI, 2000; OLIVEIRA, 2018). Os fungicidas atuam de várias maneiras para combater os fungos fitopatogênicos, seja interferindo na síntese de componentes celulares essenciais, como membranas celulares e parede celular, inibindo processos metabólicos vitais ou dificultando funções específicas nas células fúngicas (FRAC, 2017). Por exemplo, o grupo dos triazóis atuam inibindo a biossíntese de ergosterol, um componente importante da membrana celular dos fungos, enquanto as estrobilurinas interferem na cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias dos fungos. As carboxamidas inibem a biossíntese de lipídeos na membrana celular e os protetores multissítios agem em várias etapas metabólicas dentro da célula fúngica, dificultando o desenvolvimento e a sobrevivência dos fungos (REIS et al., 2012; ZANATTO et al., 2018).

Historicamente, os fungicidas químicos têm sido amplamente utilizados para o controle da antracnose e de outros patógenos em culturas como pinheira, gravioleira e atemoleira. No entanto, o uso excessivo e indiscriminado desses produtos pode resultar em problemas ambientais, como a contaminação do solo e da água, além do desenvolvimento de resistência por parte dos fungos-alvo (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014; SAATH; FACHINELLO, 2018)

Visando direcionar o melhor manejo no controle da antracnose em anonáceas, o objetivo deste estudo foi avaliar a sensibilidade *in vitro* de três isolados de *Colletotrichum theobromicola* aos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e a combinação de Azoxistrobina + Difenconazol, bem como avaliar a eficácia do fungicida Azoxistrobina + Difenconazol no controle da antracnose em mudas da pinheira, atemoleira e gravioleira.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção dos isolados de *Colletotrichum theobromicola*

Para os testes *in vitro* e *in vivo*, isolados representativos de *C. theobromicola*, identificados por meio de Inferência Bayesiana baseados nas análises filogenética multi-locus dos genes  $\beta$ -tubulina (*TUB2*), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), ApMat, e região do espaço interno transcrito (ITS) foram escolhidos para os experimentos (tabela 1), por serem os mais prevalentes nas análises preliminares dos estudos de identificação referentes ao capítulo I.

**Tabela 1:** Isolados de *Colletotrichum theobromicola*.

ESPÉCIE	Isolados	Hospedeiro	Lugar de coleta
<i>C. theobromicola</i>	<b>12 ALP</b>	<i>A. squamosa</i>	Rio Largo – AL
<i>C. theobromicola</i>	<b>58 ALG</b>	<i>A. muricata</i>	Maragogi - AL
<i>C. theobromicola</i>	<b>102 ALA</b>	<i>A. Squamosa X A. cherimolia</i>	Palmeira dos Índios -AL

Fonte: Autora, 2024

### 2.2. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial *in vitro* de isolados de *Colletotrichum theobromicola*

A sensibilidade dos isolados de *C. theobromicola* foi avaliada observando o crescimento micelial em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA-Kasvi) sintético, suplementado com fungicidas descritos na Tabela 2.

**Tabela 2:** Fungicidas utilizados nos testes de sensibilidade.

Ingrediente Ativo	Nome comercial	Grupo químico	Tipo	CIA <sup>1</sup>
Difenoconazole	Score	Triazol	Sistêmico	250g/L <sup>-1</sup>
Piraclostrobina	Comet	Estrobilurinas	Sistêmico	250g/L <sup>-1</sup>
Flutriafol	Tenaz	Triazol	Sistêmico	500g/L <sup>-1</sup>
Azoxistrobina		Estrobilurina		200 g/L <sup>-1</sup>
+	Amistar Top®	+	Sistêmico	+
Difenoconazol		Triazol		125 g/L <sup>-1</sup>

<sup>1</sup>Concentração do ingrediente ativo

Fonte: Autora, 2024

Os fungicidas foram dissolvidos diretamente em água destilada esterilizada e, em

seguida, foi completado seu volume até 100 mL, para obtenção de uma solução estoque de 10.000 mg L<sup>-1</sup> do ingrediente ativo. A partir da solução estoque, foi realizada uma diluição em série, de tal maneira que cada mL dessa solução, quando adicionada à 99 mL de meio BDA fundente, produzia a concentração desejada.

O meio de cultura com o fungicida foi homogeneizado e, posteriormente, vertidos em placas de Petri. Discos de 5mm de diâmetro contendo as estruturas fúngicas, com 7 dias de crescimento, dos isolados de *C. theobromicola*, foram colocados no centro de placas de Petri, contendo meio BDA sintético, suplementado com os fungicidas. As testemunhas consistiram da inoculação de discos miceliais diretamente no meio BDA sem a adição de fungicidas. As placas foram mantidas em câmara B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*), à temperatura de 25°C ± 1 no escuro.

As concentrações dos fungicidas foram estabelecidas utilizando uma dosagem maior e uma menor, referente aquela recomendada pelo fabricante para o controle da antracnose para anonáceas. Logo, para o fungicida difenoconazole foram estabelecidas as seguintes concentrações: 50, 75 e 100 µg de i.a. ml<sup>-1</sup>. Para Piraclostrobina foram: 75, 100 e 125 µg de i.a. ml<sup>-1</sup>. O Flutriafol as concentrações foram: 200, 375 e 550 µg de i.a. ml<sup>-1</sup> e Azoxistrobina + Difenconazol: 100, 162,5 e 225 µg de i.a. ml<sup>-1</sup>.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto por 3 isolados de *C. theobromicola* x 4 fungicidas x 3 concentrações + testemunha, sendo cinco repetições por tratamento. As avaliações foram realizadas, por meio da mensuração do crescimento micelial, perpendicularmente, durante 7 dias, com auxílio de uma régua. Com o resultado das medidas, foi calculado o índice de velocidade crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), de acordo com as fórmulas descritas a seguir:

$$IVCM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \frac{C_n}{N_n}$$

Onde: C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> e C<sub>n</sub> correspondem ao crescimento micelial na primeira, segunda e última avaliação; e N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> e N<sub>n</sub> correspondem ao número de dias após a inoculação.

$$PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

### 2.3. Efeito de fungicidas sobre isolados de *Colletotrichum theobromicola* em mudas de anonáceas.

Para testar a capacidade do fungicida azoxistrobina + difenoconazol, concentração de  $162,5 \mu\text{gL}^{-1}$ , no controle preventivo e curativo da antracnose, mudas de pinheira, gravioleira e atemoleira foram produzidas a partir de sementes obtidas de frutos maduros. A escolha desse fungicida foi determinada por apresentar os melhores resultados no teste *in vitro* dos isolados de *C. theobromicola*.

Os frutos foram despulpados e suas sementes lavadas e secas em papel toalha, posteriormente, foi colocada uma semente em cada saco plástico de polietileno (22x20cm), contendo solo misturado com matéria orgânica. As mudas foram mantidas em casa de vegetação e irrigadas a cada dois dias. Aos 90 dias, foram utilizadas nos experimentos, que foi realizado em dois períodos distintos. O primeiro no mês de abril e o segundo no mês de agosto, ambos em 2024.

Para determinar o efeito preventivo foram realizadas pulverizações do fungicida nas folhas das mudas de atemoleira, gravioleira e pinheira e, após 48 horas, os discos de micélio provenientes das colônias dos isolados de *C. theobromicola*, cultivadas durante 7 dias, em meio de cultura BDA, foram inoculadas nas folhas. Para a testemunha foram utilizadas mudas, sem a aplicação do fungicida, inoculadas com o patógeno. No efeito curativo foi realizada a inoculação dos discos de BDA contendo as estruturas do patógeno em folhas das culturas e, após o surgimento das lesões, foi pulverizado o fungicida. A testemunha consistiu na inoculação do patógeno no mesmo período da aplicação do fungicida. As inoculações foram realizadas em quatro folhas, feridas com auxílio de uma agulha estéril, sendo uma repetição por folha.

As pulverizações com o fungicida foram realizadas utilizando um borrifador manual, onde em cada planta eram depositados aproximadamente 10ml da suspensão, na concentração de  $162,5 \mu\text{gL}^{-1}$ .

Posteriormente, todas as mudas foram acondicionadas em uma estrutura envolta por plástico, com umidificadores, ligados a cada 12 horas, para manter a umidade relativa do ar elevada e, assim, favorecer o desenvolvimento do patógeno. O experimento foi mantido por um período de 14 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado composto por 3 isolados de *C. theobromicola* x 1 fungicida x 1 concentração. As avaliações foram realizadas por meio da mensuração do crescimento micelial, perpendicularmente, aos quatorze dias. O patógeno foi reisolado para comprovar a patogenicidade das espécies conforme os postulados de Koch (1882).

### **3. ANÁLISE DOS DADOS**

Os resultados dos experimentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey, utilizando o programa estatístico Assistat (SILVA; AZEVEDO, 2016).

## 4. RESULTADOS

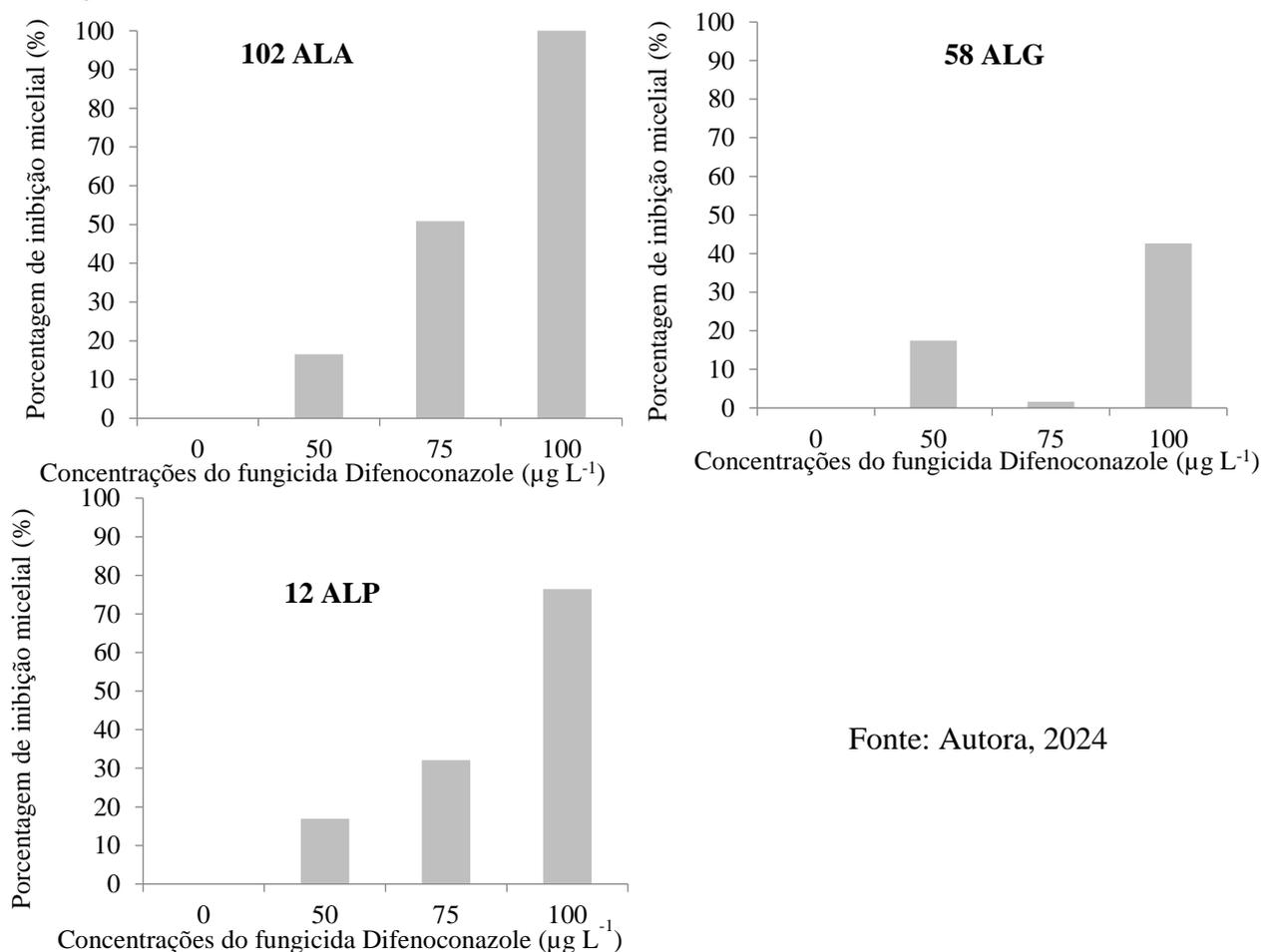
### 4.1. Efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial *in vitro* de isolados de *Colletotrichum theobromicola*.

Observou-se diferença significativa entre os fungicidas e concentrações testadas, quando analisamos o crescimento micelial dos isolados de *C. theobromicola*, sobre os efeitos das diferentes concentrações dos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Flutriafol e Azoxistrobina + Difenconazol.

As maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial dos isolados foram obtidas nas maiores concentrações (100; 125; 162,5; 225; 375 e 550  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) dos fungicidas Difenconazole, Piraclostrobina, Azoxistrobina + Difenconazol (Amistar top) e Flutriafol, respectivamente.

A maior concentração de difenconazole (100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) inibiu 42,62, 76,44 e 100% do crescimento micelial dos isolados 58ALG; 12ALP e 102ALA, respectivamente. No entanto, na concentração recomendada pelo fabricante (75  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), para antracnose em anonáceas houve uma redução de 50,88% do crescimento micelial para o isolado 102ALA, já para o isolado 12ALP a redução foi de 32,06%, contudo, para o isolado 58ALG não houve redução significativa, com apenas 1,63% (Figura 1).

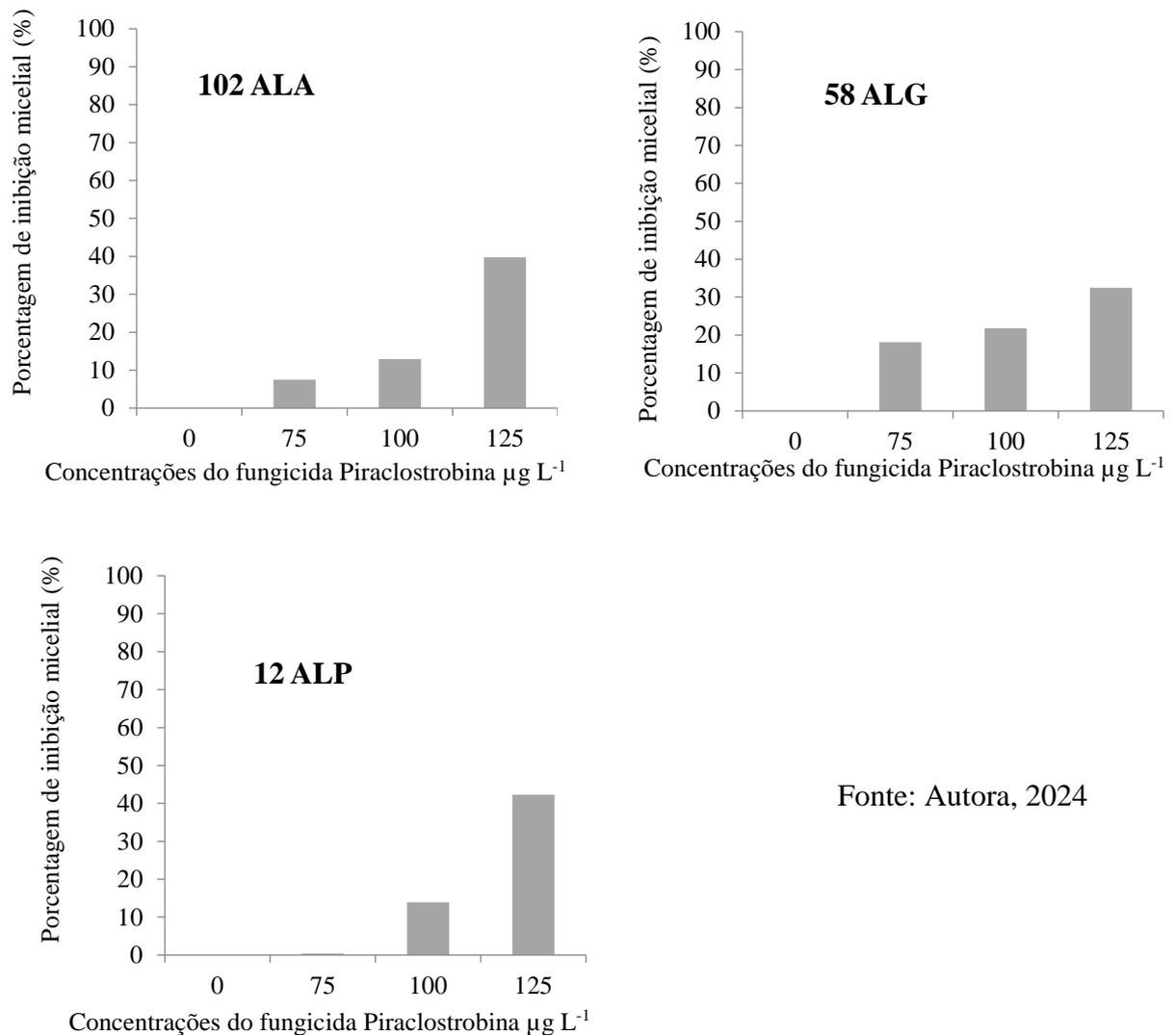
**Figura 1:** Porcentagem de inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando o fungicida Difenconazole.



Fonte: Autora, 2024

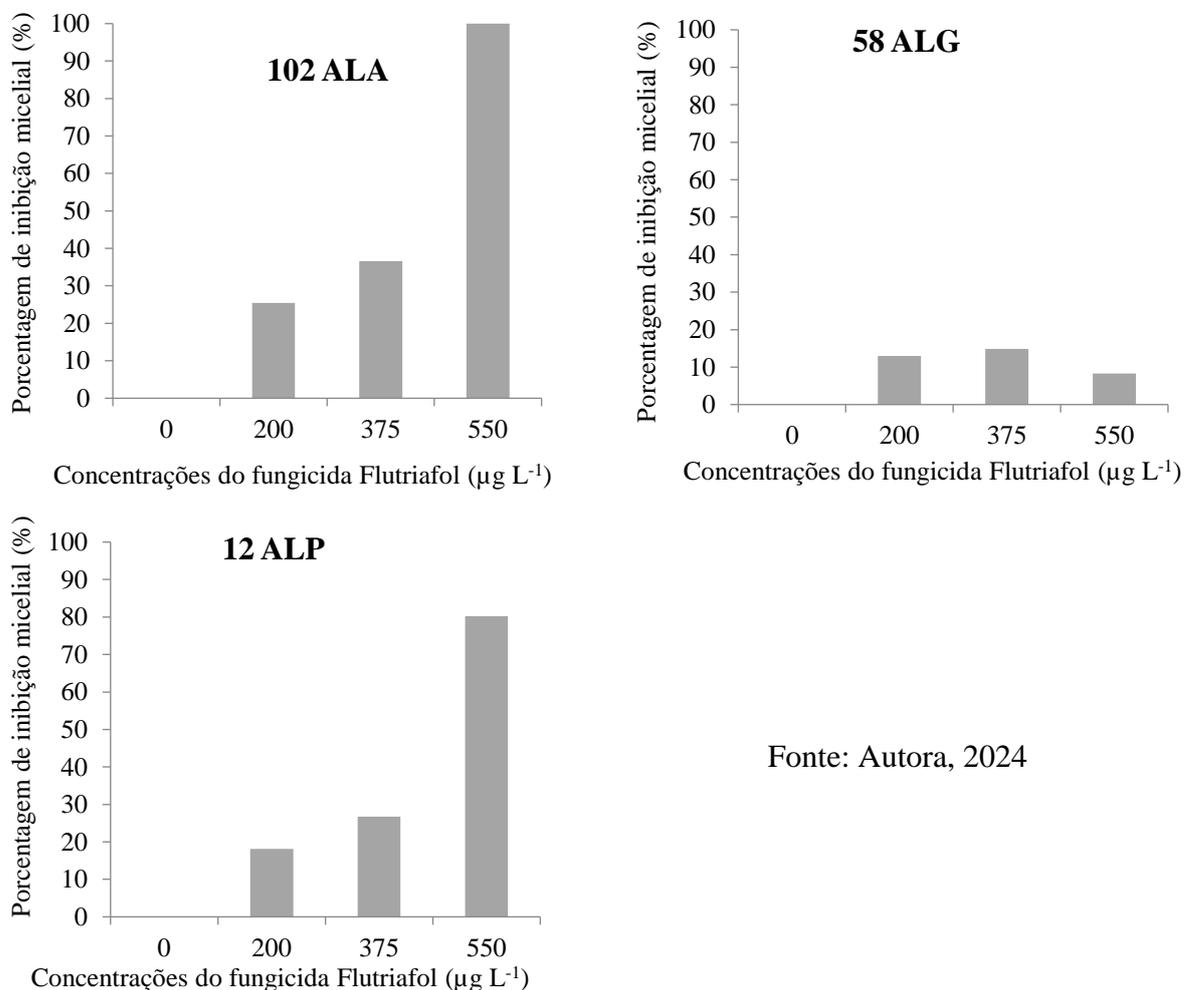
Para o fungicida Piraclostrobina observou-se uma redução do crescimento micelial de 42% para o isolado 12ALP; 39,74% para 102ALA e 32,46% para 58 ALG na maior concentração de  $125 \mu\text{g L}^{-1}$ . Todavia, na concentração recomendada pelo fabricante ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ) os isolados apresentaram uma redução mínima na PIC, em comparação a dosagem maior ( $125 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Para o isolado 102ALA houve apenas redução de 12,91%, e 13,91% para 12ALP, o isolado 58ALG foi quem apresentou um melhor comportamento com 21,74% (Figura 2).

**Figura 2:** Porcentagem de inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando o fungicida Piraclostrobina.



A interação entre o fungicida Flutriafol e as concentrações estabelecidas (200, 375, 550  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) apresentaram uma resposta de sensibilidade dos isolados que variou de acordo com as concentrações. As maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial foram observadas na dosagem de 550  $\mu\text{g L}^{-1}$ , inibindo 100% do crescimento micelial para o isolado 102 ALA, seguido do isolado 12 ALP (80,21%). No entanto, observa-se que para o isolado 58ALG houve uma baixa redução da PIC, ficando menor que 20% em todas as concentrações testadas (Figura 3).

**Figura 3:** Porcentagem de inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando o fungicida Flutriafol

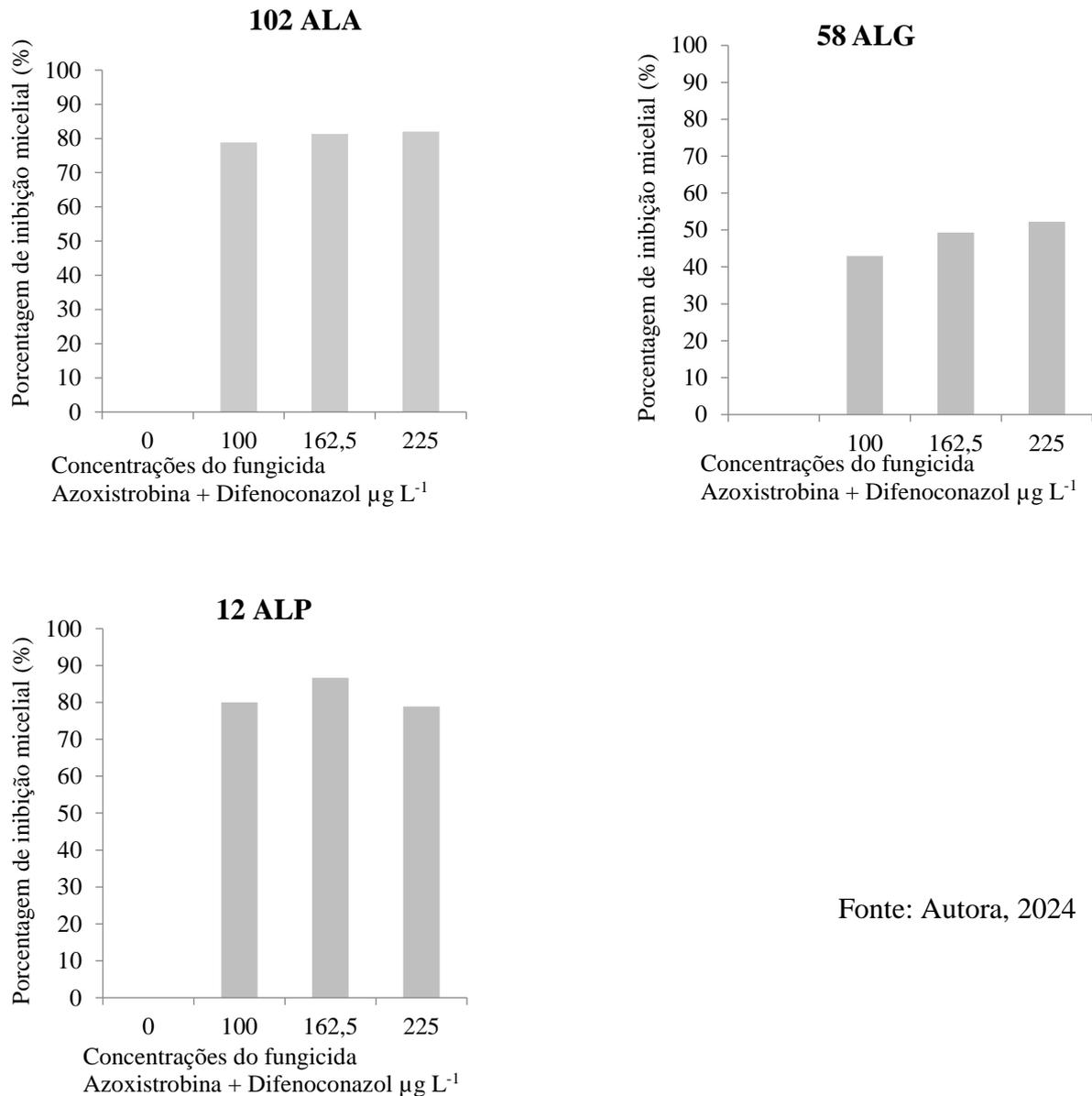


Fonte: Autora, 2024

Quando utilizou a mistura de Azoxistrobina + Difenconazol evidenciou uma relação proporcional entre os valores da PIC, ou seja, as três concentrações foram capazes de inibir o crescimento micelial dos três isolados. Observa-se ainda que a maior concentração (225  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e a concentração recomendada pelo fabricante (162,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) apresentou resultados semelhantes

na inibição do crescimento micelial desses isolados. Essas concentrações foram capazes de inibir o crescimento micelial em torno de 80% para os isolados 102 ALA e 12 ALP, já para o isolado 58ALG foi constatada uma inibição de aproximadamente 50% (Figura 4).

**Figura 4:** Porcentagem de inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando o fungicida Azoxistrobina + Difenconazol



Fonte: Autora, 2024

Baseado nos dados obtidos, pode-se inferir a eficácia variável dos fungicidas no Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), mostrando uma variação significativa, dependendo dos isolados de *C. theobromicola* e concentrações utilizadas (Tabela 3).

Quando utilizou o fungicida difenoconazole, observou que à medida que aumentavam as concentrações diminuía o IVCm para todos os isolados, exceto para 58ALG que apresentou comportamento diferente dos demais isolados, com valor de 4,73 cm na concentração de 75  $\mu\text{g L}^{-1}$ , quando comparado com a menor concentração (50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (3,97 cm) e não diferindo estatisticamente da testemunha. No entanto, observa-se ainda que a melhor inibição (100%) ocorreu para o isolado 102ALA, na maior concentração (100  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (Figura 5, Tabela 3A). Resultados semelhantes foram observados para Flutriafol, ou seja, na maior concentração (550  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) do fungicida obteve uma alta taxa de inibição do crescimento micelial do isolado 102ALA (100%). Observações também foram realizadas para o isolado 58ALG com um aumento do IVCm (4,41 cm) na maior concentração (550  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), quando comparados com as menores doses 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  (4,19 cm) e 375  $\mu\text{g L}^{-1}$  (4,10 cm) (Figura 6, Tabela 3B).

Para o fungicida Piraclostrobina observa-se uma redução acentuada no IVCm para todas as concentrações testadas, quando comparados com a testemunha, obtendo-se o melhor resultado para o isolado 12ALP (2,12 cm), na maior concentração (125  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), sendo este isolado o mais suscetível ao tratamento. Contudo, o isolado 58ALG apresentou a maior resistência ao fungicida em relação aos demais isolados para todas as concentrações (Figura 7, Tabela 3C). Resultados semelhantes foram observados para a mistura de Azoxistrobina + Difenconazol, no qual o isolado 58ALG, também, apresentou maior resistência ao fungicida em todas as concentrações testadas. Contudo, o isolado 12ALP foi o mais suscetível (0,49 cm) na concentração de 162,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ , dose recomendada pelo fabricante. Ainda vale ressaltar que, de forma geral, os três isolados testados apresentaram uma melhor resposta quando utilizou a mistura Azoxistrobina + Difenconazol (Figura 8, Tabela 3D).

**Tabela 3:** Médias da inibição de velocidade de crescimento micelial (IVCM) nas distintas concentrações dos fungicidas Difenconazole, Flutriafol Piraclostrobina, e Azoxistrobina + Difenconazol no controle de isolados de *Colletotrichum theobromicola*.

(A) FUNGICIDA DIFENOCONAZOLE				
ISOLADOS ( <i>C. theobromicola</i> )	Concentrações ( $\mu\text{g de i.a.mg L}^{-1}$ )			
	MÉDIAS (cm)			
	Testemunha	50	75	100
102 ALA	3,97 bA	3,24 bB	2,21 cC	0,00 cD
58 ALG	4,81 aA	3,97 aB	4,73 aA	2,76 aC
12 ALP	3,67 cA	3,05 bB	2,49 bC	0,86 bD
Isolados (I)		654.2427 **		
Concentrações (C)		865.3695 **		
Interação I x C		55.4930 **		
CV%		5,54		

**(B) FUNGICIDA FLUTRIAFOL**

ISOLADOS ( <i>C. theobromicola</i> )	CONCENTRAÇÕES ( $\mu\text{g de i.a.mg L}^{-1}$ )			
	MÉDIAS (cm)			
	Testemunha	200	375	550
102 ALA	3,97 bA	2,96 bB	2,51 bC	0,00 cD
58 ALG	4,81 aA	4,19 aB	4,10 aA	4,41 aB
12 ALP	3,67 bA	3,01 bB	2,69 bB	0,72 bC
Isolados (I)	582.4051 **			
Concentrações (C)	360.2336 **			
Interação I x C	83.6601 **			
CV%	6,73			

**(C) FUNGICIDA PIRACLOSTROBINA**

ISOLADOS ( <i>C. theobromicola</i> )	CONCENTRAÇÕES ( $\mu\text{g de i.a.mg L}^{-1}$ )			
	MÉDIAS (cm)			
	Testemunha	75	100	125
102 ALA	3,97 bA	3,70 aAB	3,36 abB	2,39 bC
58 ALG	4,81 aA	3,94 aB	3,71 aBC	3,33 aC
12 ALP	3,67 bA	3,66 aA	3,16 bB	2,12 Bc
Isolados (I)	58,72 **			
Concentrações (C)	110,39 **			
Interação I x C	4,85 **			
CV%	6,93			

**(D) FUNGICIDA AZOXISTROBINA + DIFENOCONAZOL**

ISOLADOS ( <i>C. theobromicola</i> )	CONCENTRAÇÕES ( $\mu\text{g de i.a.mg L}^{-1}$ )			
	MÉDIAS (cm)			
	Testemunha	100	162,5	225
102 ALA	3,97 bA	0,84 bB	0,74 bB	0,71 bB
58 ALG	4,81 aA	2,74 aB	2,44 aC	2,30 aC
12 ALP	3,67 cA	0,73 bB	0,49 cC	0,77 bB
Isolados (I)	867.5687 **			
Concentrações (C)	1573.4835 **			
Interação I x C	17.3840 **			
CV%	6,89			

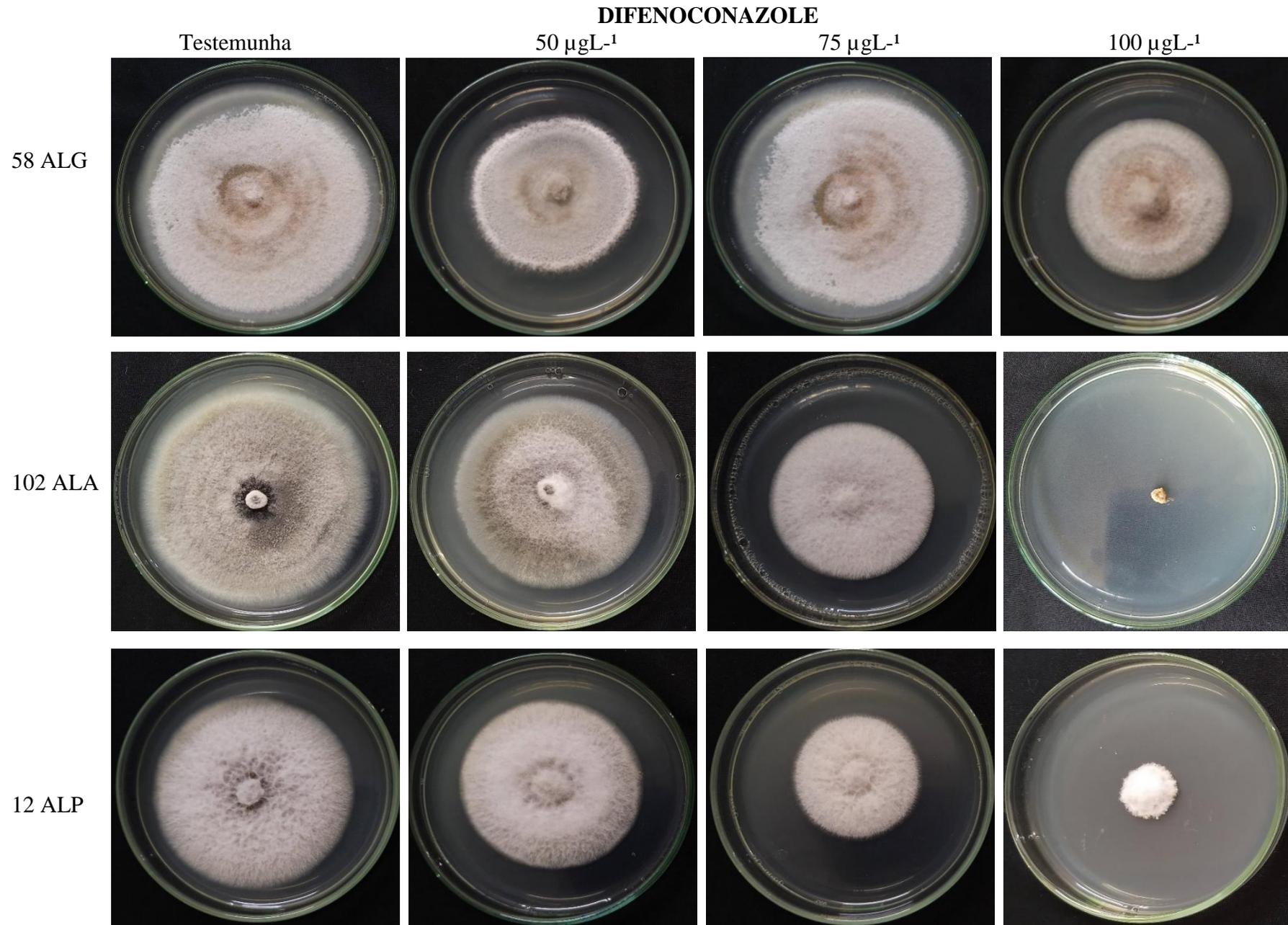
Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

(\*\*) Significativo a 1% de probabilidade ( $p < .01$ ).

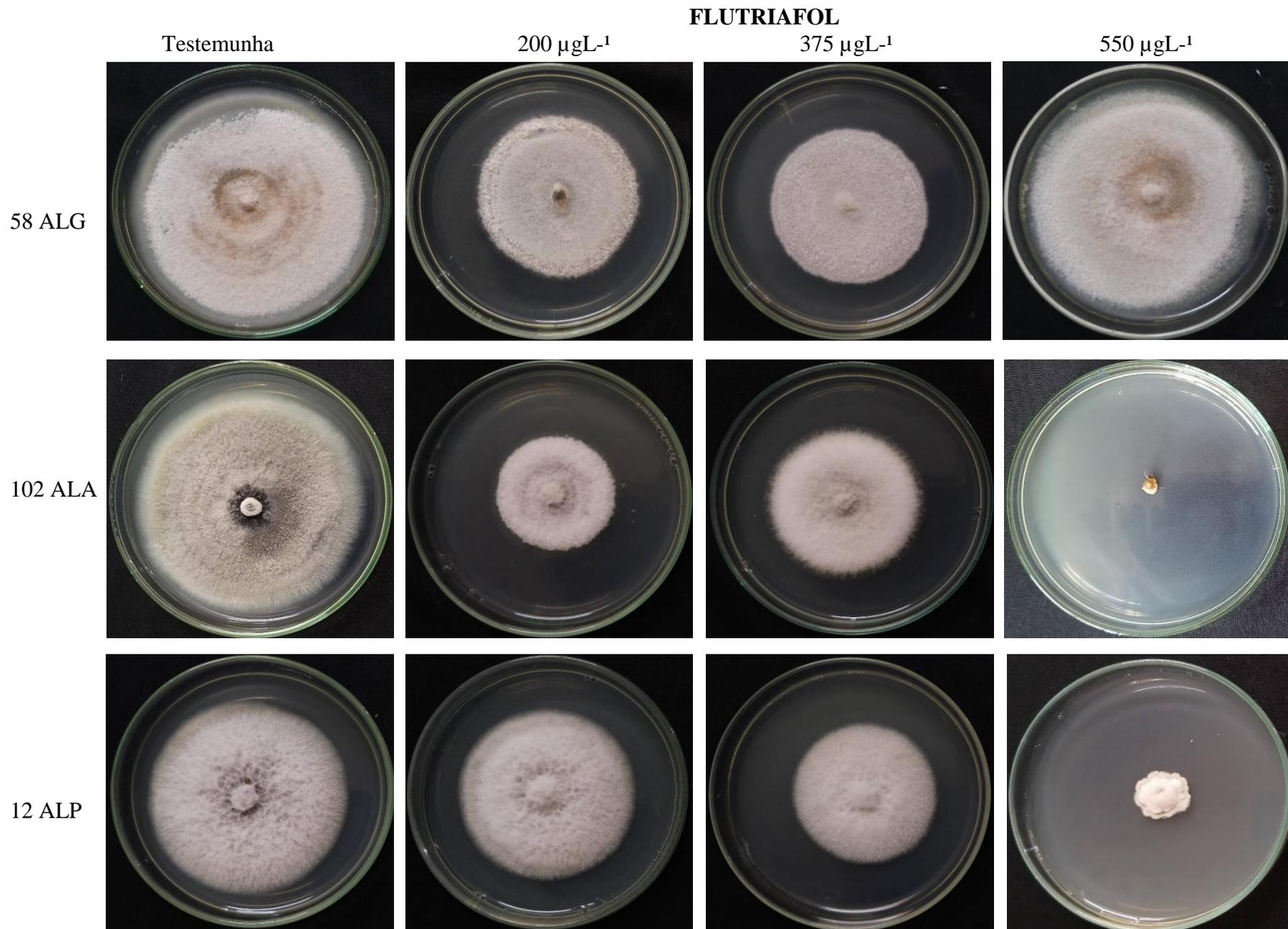
(\*) significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ ).

(ns) não significativo ( $p \geq .05$ )

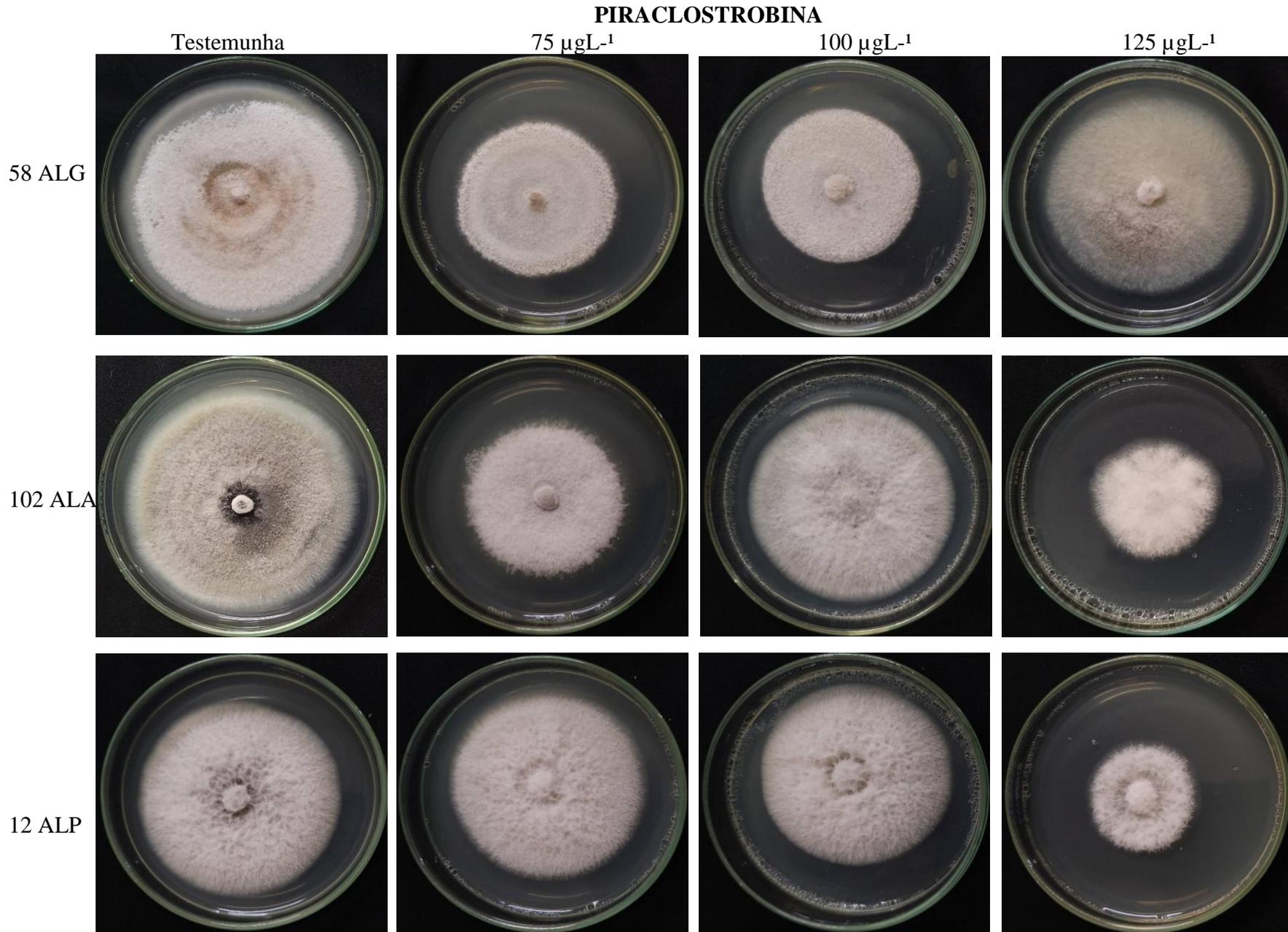
**Figura 5:** Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum theobromicola* nas diferentes concentrações do fungicida Difenconazole



**Figura 6:** Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum theobromicola* nas diferentes concentrações do fungicida Flutriafol

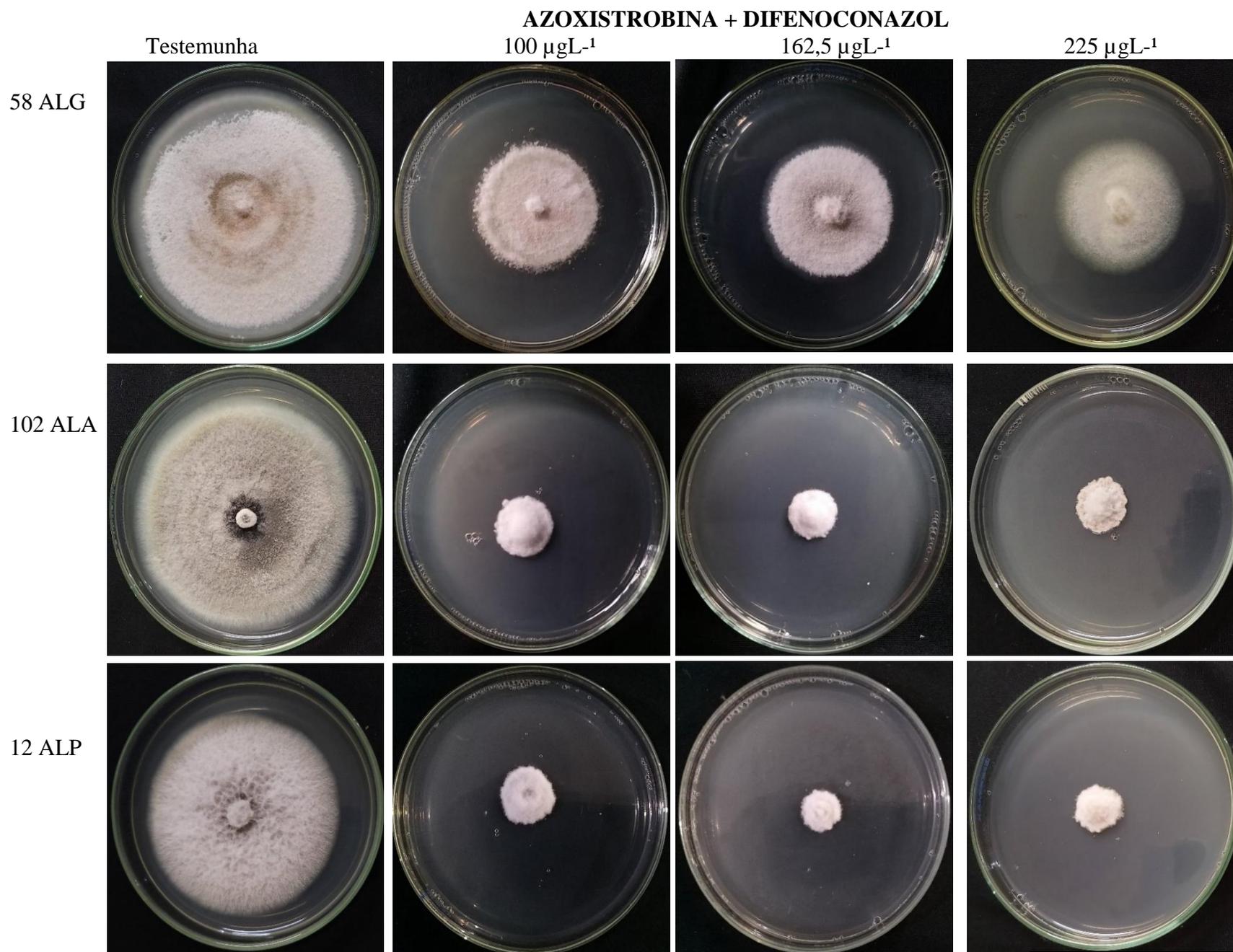


**Figura 7:** Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum theobromicola* nas diferentes concentrações do fungicida Piraclostrobina



Fonte: Autora, 2024

**Figura 8:** Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum theobromicola* nas diferentes concentrações do fungicida Azoxistrobina + Difenconazol.



#### 4.2. Efeito de fungicidas sobre isolados de *Colletotrichum theobromicola* em mudas de anonáceas.

Nos experimentos em mudas de anonáceas, os resultados obtidos sobre a efeito do fungicida Amistar Top (Azoxistrobina + Difeconazol) indicam que houve diferença estatística entre os tratamentos curativo e preventivo em relação à testemunha para os isolados 102 ALA e 12 ALP (Tabela 4, Figura 9). Os três isolados causaram manchas de coloração marrom-escuras, deprimidas, com bordas irregulares ou circulares, que variaram de tamanho.

Para ambos experimentos, de acordo aos resultados, indicam que o tratamento curativo teve um efeito ligeiramente positivo na redução do tamanho das lesões causadas pelos isolados 102ALA e 12ALP, quando comparado às testemunhas. No entanto, para o isolado 58ALG, este tratamento não foi eficaz, uma vez que não apresentou diferença significativa em relação à testemunha.

O tratamento preventivo provou ser mais eficaz na redução do tamanho das lesões para os três isolados, nos dois experimentos. Cabe ressaltar que o isolado 12 ALP, identificado como mais agressivo mostrou a maior redução no tamanho da lesão neste tratamento em comparação a sua testemunha (Tabela 4, Figura 9).

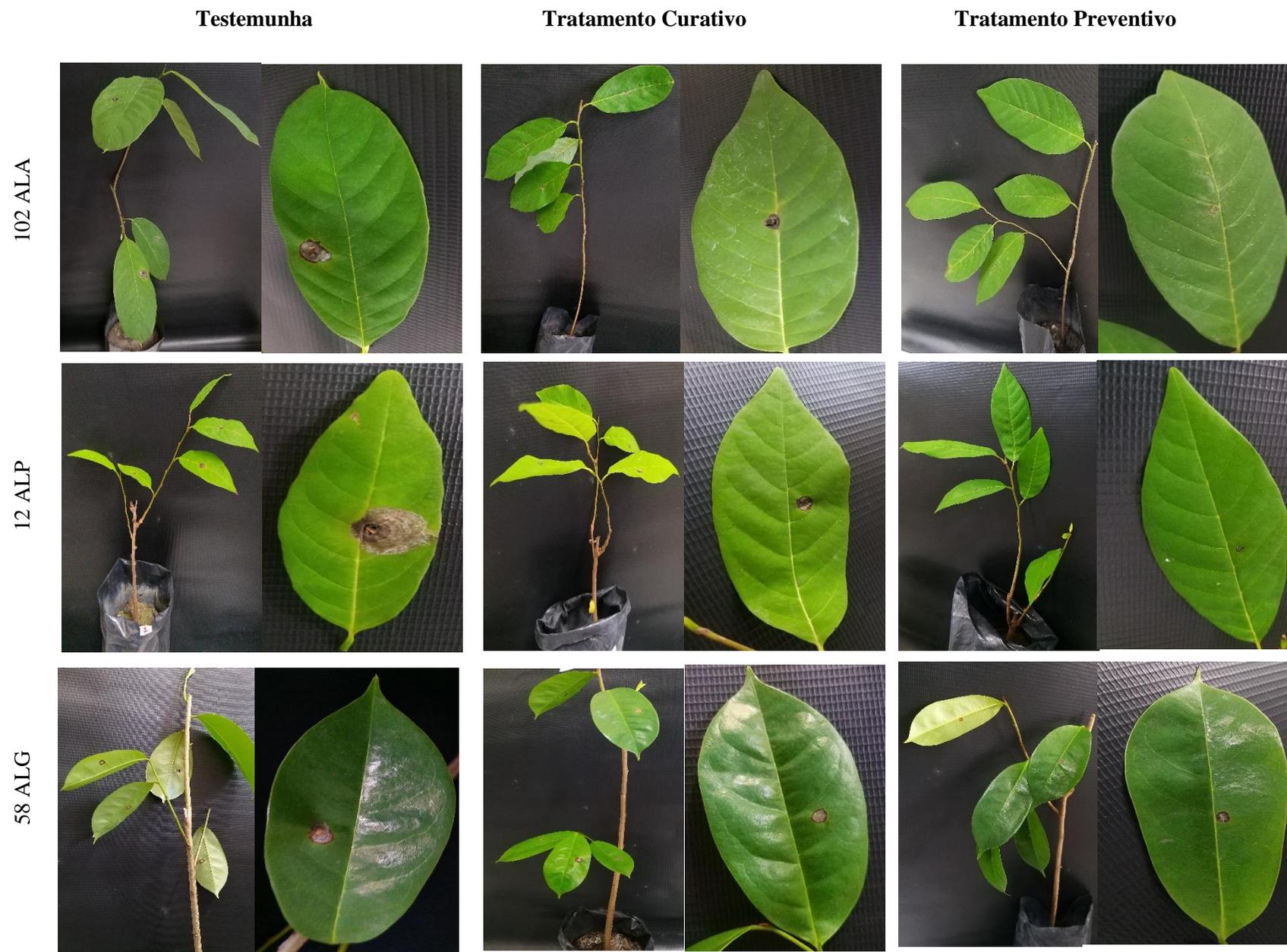
**Tabela 4:** Severidade da antracnose *in vivo* de isolados de *Colletotrichum theobromicola*

AZOXISTROBINA + DIFENOCONAZOL (162,5 µg de i.a.mg L <sup>-1</sup> )						
TRATAMENTOS	Experimento 1 (Abril/2024)			Experimento 2 (Agosto/2024)		
	ISOLADOS (Médias do diâmetro das lesões em cm)			ISOLADOS (Médias do diâmetro das lesões em cm)		
	102 ALA	12 ALP	58 ALG	102 ALA	12 ALP	58 ALG
Testemunha	0,65 a	1,22 a	0,55 a	0,55 a	0,91 a	0,51 a
Curativo	0,45 b	0,47 b	0,5 a	0,44 ab	0,58 ab	0,46 a
Preventivo	0,25 c	0,25 c	0,30 b	0,33 b	0,50 b	0,37 b
Período de Incubação (Dias)	2	2	2	2	2	2
<b>CV%</b>	<b>16,56</b>	<b>8,11</b>	<b>12,83</b>	<b>17,50</b>	<b>26,52</b>	<b>9,90</b>

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autora, 2024

**Figura 9:** Sensibilidade *in vivo* de isolados de *Colletotrichum theobromicola* ao fungicida Azoxistrobina + Difenconazol.



Fonte: Autora, 2024

## 5. DISCUSSÃO

A antracnose tornou-se um dos problemas mais importantes para a cultura das anonáceas, visto que a virulência de *Colletotrichum* spp. provoca uma diminuição significativa no rendimento e na qualidade dos frutos, decorrentes do ataque do patógeno em várias partes da planta (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014; QUEIROGA et al., 2023). Devido à importância econômica das pinheiras, gravioleiras e atemoleiras como culturas frutíferas, é crucial desenvolver e implementar estratégias eficazes de manejo da antracnose. Isso pode incluir práticas culturais adequadas, uso de cultivares resistentes, quando disponíveis, além do uso de fungicidas.

A aplicação de fungicidas na cultura das anonáceas está baseada na utilização isolada ou em misturas de princípios ativos dos grupos das estrobilurinas, triazóis, ditiocarbamatos, benzimidazóis e carboxamidas (MAPA, 2024). Os experimentos empregando fungicidas e diferentes concentrações foram conduzidos para avaliar a sensibilidade de três isolados de *C. theobromicola* associados a antracnose de anonáceas.

A espécie *C. theobromicola* foi selecionada para os testes devido a sua relevância nos estudos de identificação do capítulo anterior, bem como nos relatos de Costa et al., (2019) e, assim, determinar o potencial dos fungicidas flutriafol, difenoconazole, piraclostrobina e a mistura de azoxistrobina + difenoconazol no controle da doença antracnose nas culturas da pinheira, gravioleira e atemoleira (SCORE-SYNGENTA, 2023; FLUTRIAFOL-SUMITOMO CHEMICAL, 2023; COMET-SYNGENTA, 2023; AMISTAR TOP-SYNGENTA, 2022).

Os fungicidas flutriafol e difenoconazole pertencem ao grupo Triazol, sua formulação é do tipo Concentrado Emulsionável (EC) (AGROFIT, 2023). São classificados como fungicidas sistêmicos, conhecidos por sua ação extremamente tóxica e possui propriedades preventivas, curativas e antiesporulantes contra fungos (SCORE-SYNGENTA, 2023; FLUTRIAFOL-SUMITOMO CHEMICAL, 2023), sendo amplamente utilizados para controlar a antracnose e outras doenças fúngicas e em várias culturas de importância econômica (REIS et al., 2018).

O flutriafol, tem sido avaliado para o controle de doenças em ampla gama de culturas (BHUIYAN et al., 2014). Esse fungicida é considerado o triazol com maior mobilidade dentro da planta em comparação a outros do mesmo grupo. No entanto, a sua persistência nos tecidos vegetais pode variar significativamente entre as espécies. Isso ocorre devido a diferentes fatores fisiológicos e bioquímicos, que influenciam a absorção, translocação e degradação do princípio ativo em cada tipo de planta (ZHANG et al., 2015). Este fungicida mostrou-se eficiente no controle da antracnose do cajueiro (ADRIANO et al., 2022).

A eficácia de Difeconazole é relatada por Sáles et al., (2019), no controle *in vitro* da espécie de *C. theobromicola*, assim como as outras espécies associadas à antracnose em pinha e graviola. Shi et al. (2021) relataram alta sensibilidade das espécies *C. enigma*, *C. scovillei*, *C. truncatum* e *C. fructicola* ao fungicida difenoconazole.

Piraclostrobina é do grupo das estrobilurinas que atuam como inibidor do transporte de elétrons nas mitocôndrias das células dos fungos, inibindo a formação de ATP essencial nos processos metabólicos (COMET, 2023).

A mistura Azoxistrobina +Difenoconazol possui mais de um modo de ação que são frequentemente utilizadas para aumentar a eficácia do controle e reduzir o desenvolvimento de resistência por parte dos patógenos. Por exemplo, a associação da azoxistrobina (QoIs), que pertence ao grupo dos inibidores da quinona externa, com difenoconazol (DMIs) é um inibidor da desmetilação, sendo uma estratégia comum para o controle eficaz da antracnose e de outras doenças fúngicas (AMISTAR TOP-SYNGENTA, 2022).

Vários autores têm relatado a eficácia da azoxistrobina e do difenoconazol no controle da antracnose causada por diferentes espécies de *Colletotrichum*, em diversas culturas, por exemplo, Oliveira et al. (2021) utilizaram com eficácia a azoxistrobina e o difenoconazol no controle da antracnose causada por *C. truncatum* na cultura da soja (*Glycine max* L.). Veloso et al., (2021, 2022) demonstraram que a azoxistrobina e difenoconazol foram eficazes no controle da antracnose causada por várias espécies de *Colletotrichum* em cajueiro (*Anacardium occidentale* L.).

Os isolados provenientes de pinheira e atemoleira apresentaram comportamento semelhantes quando submetidos as diferentes concentrações do fungicida Azoxistrobina +Difenoconazol. Esses resultados são consistentes com os obtidos por Carreño et al. (2021) que relataram uma inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. ao usar os fungicidas tebuconazol, propiconazol, difenoconazol, benomil, carbendazim e azoxistrobina.

Os resultados aos tratamentos utilizando os diferentes fungicidas/concentrações demonstram diferenças na sensibilidade entre os isolados da mesma espécie, por exemplo, o isolado de atemoia apresentou melhores resultados na concentração maior dos fungicidas do grupo de inibidores de desmetilação (difeconazole e o flutriafol).

Diferentes ingredientes ativos, apesar de pertencerem ao mesmo grupo químico, possuem diferenças intrínsecas que afetam diretamente sua performance no controle de doenças. A translocação de um fungicida no interior das plantas está associada à sua lipofilicidade intrínseca ou a sua relativa solubilidade nas membranas. Portanto, cada fungicida

tem um espectro de ação que pode ser mais ou menos efetivo contra certas espécies (SANTOS et al., 2018).

Em relação ao efeito preventivo e curativo dos fungicidas do grupo químico dos triazóis e estrobilurinas, no controle da antracnose, ajudam a garantir um maior controle, caso que aconteceu neste trabalho com o fungicida Azoxistrobina + Difenconazol no controle de *C. theobromicola*, pois os triazóis podem atuar como protetores ou como curativos (BUCHENAUER, 1987; AMISTAR TOP-SYNGENTA, 2022); e as estrobilurinas tem uma atividade de contato, e possuem movimentação translaminar, difusão da fase de vapor (BALDWIM et al., 1996; AMISTAR TOP-SYNGENTA, 2022) e forte aderência à cutícula das plantas, o que confere maior resistência à remoção pela chuva (SOUZA, 2009). No trabalho de Souza (2009) relatam que o fungicida carbendazim (Derosal) e misturas de triazóis + estrobilurinas (Sphere e Priori Xtra) controlam curativamente e preventivamente a antracnose da soja.

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*.

## 6. CONCLUSÕES

O fungicida Amistar Top (Azoxistrobina + Difenconazol) apresentou as maiores taxas de inibição do crescimento micelial *in vitro* para os isolados de *Colletotrichum theobromicola*.

Apenas o isolado 102ALA apresentou inibição micelial de 100%, nas maiores concentrações de difenconazole e flutriafol.

O controle preventivo foi eficaz, na redução da antracnose, causada por isolados de *C. theobromicola*.

## REFERÊNCIAS

- ADRIANO, B.; ROMÃO, D.; UACIQUETE, A.; MONDJANA, A. M.; BILA, J. *In vitro* assessment of copper oxychloride and flutriafol for the control of cashew leaf and fruit blight fungi. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, p. 1-11, 2022.
- AGROFIT. 2023. Disponível em:  
[https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso: 11 de dezembro 2023.
- AMISTAR TOP-SYNGENTA. **Fungicida amistar top** (Bula 2022). Disponível em:  
[https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2023/03/08/BULA\\_AMISTAR\\_TOP\\_FEV\\_23.pdf](https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2023/03/08/BULA_AMISTAR_TOP_FEV_23.pdf). Acesso: fevereiro/2024.
- CARREÑO, J.; SÁNCHEZ, L.; CEDEÑO, G.; PALACIOS, C. S.; ZAMBRANO, S. V. Efecto *in vitro* de fungicidas para el control de *Colletotrichum* spp. em frutales Manabi – Ecuador. **Revista Ciencia UNEMI**, v. 14, n. 35, p. 37-42, 2021.
- COMET. **Fungicida piraclostrobina**. Disponível em:  
[https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos\\_restritos/files/documento/2023-05/comet.pdf](https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2023-05/comet.pdf). Acesso: janeiro/2024.
- FANTINEL, V. S.; MUNIZ, M. F. B.; POLETTO, T.; DUTRA, A. F.; KRAHN, J. T.; FRAC INTERNACIONAL. Informação sobre carboxamidas. **FRAC**, 2017. 3p. (Informativo, 01/2017). Disponível em: <[http://docs.wixstatic.com/ugd/85b1d3\\_060a6876562140b693f03708057acff2.pdf](http://docs.wixstatic.com/ugd/85b1d3_060a6876562140b693f03708057acff2.pdf)>. Acesso em dezembro/2023.
- FLUTRIAFOL- TENAZ, 250 SC/ SUMITOMO CHEMICAL (Bula 2023). **Fungicida flutriafol**. Disponível em:  
[https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos\\_restritos/files/documento/2020-10/tenaz250sc0920.pdf](https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/tenaz250sc0920.pdf). Acesso em: maio/2023.
- INOUE, K.; TSURUMI, T.; ISHII, H.; PARK, P.; IKEDA, K. Cytological evaluation of the effect of azoxystrobin and alternative oxidase inhibitors in *Botrytis cinerea*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 326, n. 1, p. 83-90, 2012.
- JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P. Principais doenças de anonáceas no Brasil: Descrição e Controle. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 55-64, 2014.
- LE MOS, E. E. P. A. produção de anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 77-85, 2014.
- MAJAW, S. P.; KAYANG, H. *In vitro* efficacy of selected fungal isolates against *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agent of leaf spot disease of *Zingiber officinale* Rosc. **International Journal of Advanced Scientific Research and Management**, v. 3, n. 11, p. 178-187. 2018.
- MAPA-AGROFIT – SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Disponível em:  
 <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso: março/2024.
- MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças

de plantas. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. (5. Ed). São Paulo: Agronômica ceres, 2018. 573p.

MENDONÇA L. B. P. **Podridão floral dos citros: controle preventivo mediante fungicidas, biorreguladores e fertilizantes químicos**. 2014. 67f. Dissertação de Mestrado – Unesp, Jaboticabal.

PARREIRA, D.F.; NEVES, W.S.; ZAMBOLIM, L. Resistência de fungos a fungicidas inibidores de quinona. **Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 3, n. 2, p. 24-34, 2009.

REIS, E. M., et al. Efficacy of fungicides in controlling soybean anthracnose under field conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 10, p. 1123-1129, 2018.

SÁLES, O. M. E.; FIGUEREDO, O. J.; LAURENTINO J.; DOS SANTOS B. N. M.; PEREIRA A. I; SILVESTRE A. L. G. Effect of time in the moisture chamber on the anthracnosis severity in *Annona squamosa* L. and *A. muricata* L. leaves. **Ciência Agrícola**, v. 17, n. 1, p. 57-61, 2019.

SCORE-SYNGENTA. **Fungicida score**. (Bula, 2023). Disponível em: [https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2022/05/06/score\\_1.pdf](https://www.syngenta.com.br/sites/g/files/kgtney466/files/media/document/2022/05/06/score_1.pdf). Acesso: dezembro/2023.

SHI, N. N.; RUAN, H. C.; JIE, Y. L.; CHEN, F. R. Characterization, fungicide sensitivity and efficacy of *Colletotrichum* spp. from chili in Fujian, China. **Crop Protection**, v. 143, p. 1960-1968, 2021.

SILVA, C. G.; HIEGA, K.; DALBOSCO, E.; SILVA, C.; ARAÚJO, D. Fitossanidade em plantas tropicais no estado de Mato Grosso, **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 22, p. 1290, 2015.

SOUZA, R.T. **Reação de cultivares e controle da antracnose em soja**. 2009. 106 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo-RS.

TORDIN, C.; Pesticidas biológicos cresceram 45% no Brasil nos últimos cinco anos. Embrapa. Disponível em: [https://www.embrapa.br/em/busca-de-noticias/-/noticia/87248594/simposio-sobre-trichoderma-mostrou-avancos-no-controle-biologico-no-brasil?p\\_auth=8LqTouF1](https://www.embrapa.br/em/busca-de-noticias/-/noticia/87248594/simposio-sobre-trichoderma-mostrou-avancos-no-controle-biologico-no-brasil?p_auth=8LqTouF1). Acesso em 17 de fevereiro 2024.

VELOSO, J. S.; DUARTE, I. G.; FARIAS, O. R.; CÂMARA, M. P. S. Antracnose do cajueiro: etiologia, sintomatologia e aspectos epidemiológicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 28, p. 200-215, 2022.

VELOSO, J. S.; LIMA, W. G.; REIS, A.; DOYLE, V. P.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S. Factors influencing biological traits and aggressiveness of *Colletotrichum* species associated with cashew Anthracnose in Brazil. **Plant Pathology**, v. 70, p. 167–180, 2021.

### **CAPÍTULO III**

---

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE *Trichoderma harzianum* NO CONTROLE DE *Colletotrichum theobromicola* CAUSADOR DA ANTRACNOSE EM ANONACEAS.**

## RESUMO

Considerando a relevância da antracnose para as anonáceas a qual é uma das principais limitações ao cultivo dessas frutíferas, o controle biológico é uma alternativa promissora no manejo de doenças de plantas, oferecendo boa eficiência, baixo custo e baixo impacto ambiental. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antagonista de *Trichoderma harzianum* (Trichodermil SC 1306/KOPPERT) sobre três isolados de *Colletotrichum theobromicola* (12 ALP, 58 ALG e 102 ALA). Para testar essa interação, foi realizado o teste de confronto direto utilizando a metodologia de cultura pareada, com três concentrações de *T. harzianum* (0,5; 1,0 e 1,5 L/ha), bem como o teste de metabólitos voláteis. A capacidade antagônica de *T. harzianum* foi avaliada mediante a mensuração diária durante sete dias, juntamente com a escala de notas que varia de 1 a 5. O índice de crescimento micelial (IVCM) e a porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC) foram calculados. Para o teste de metabólitos voláteis, um disco da colônia do patógeno e um disco da colônia do antagonista foram adicionados individualmente no centro de placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA-Kasvi) sintético. As placas contendo o *T. harzianum* foram sobrepostas com as de *C. theobromicola* e vedadas com plástico filme transparente e incubadas a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 12 horas. As medições foram realizadas diariamente durante sete dias. No teste de pareamento de culturas, *T. harzianum* apresentou redução do crescimento micelial *in vitro* de isolados de *C. theobromicola*. Nas análises do micoparasitismo de *T. harzianum*, observamos que ocorre por meio do enrolamento e penetração nas hifas de *C. theobromicola*. No teste de metabólitos voláteis, foi possível observar inibição significativa do crescimento micelial em *C. theobromicola*, com crescimento médio do patógeno de 3,40 cm, representando uma redução de 24% em relação à testemunha, destacando a capacidade de *T. harzianum* no desenvolvimento do patógeno.

**Palavras-chave:** *Annona*; Controle biológico; Mecanismos de defesa.

## 1. INTRODUÇÃO

Devido às preocupações ambientais e à necessidade de práticas agrícolas mais sustentáveis, pesquisas estão sendo realizadas na tentativa de explorar alternativas biológicas para o controle de agentes patogênicos, como *Colletotrichum* spp. (SILVA et al., 2017; BORO et al., 2022). O manejo biológico inclui o uso de microrganismos antagonistas, extratos de plantas medicinais, compostos bioativos e produtos derivados de micro-organismos benéficos, como bactérias e fungos (BETTIOL; SILVA; CASTRO, 2019; FIGUEIRA et al., 2020).

Os microrganismos antagonistas, por exemplo, podem competir diretamente com os patógenos por recursos e espaço, produzir substâncias antimicrobianas que inibem o crescimento dos patógenos ou estimular as defesas naturais das plantas contra doenças. (HERMOSA et al., 2014; MONTE; BETTIOL; HERMOSA, 2019; QUEVEDO et al., 2022).

Biofungicidas a base de microrganismos benéficos, como os biofungicidas à base de *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp. têm mostrado eficácia no controle da antracnose e de outras doenças em várias culturas, por exemplo, estudos sobre o uso de *Trichoderma* spp. vem confirmando a capacidade de controlar fungos fitopatogênicos habitantes do solo, tais como: *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Stromatinia cepivora*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, assim como patógenos da parte aérea, como: *Venturia* spp., *Botrytis* (HJELJORD et al, 2001; LISBOA et al, 2007), *Crinipellis pernicioso* (SANOGO et al, 2002), dentre outros (ALVARADO; RIVERA, 2016; SRIVASTAVA et al., 2016; NAGAMANI et al., 2017; O'BRIEN, 2017). Esses produtos biológicos oferecem uma abordagem mais sustentável e de baixo impacto ambiental para o controle de patógenos, reduzindo a dependência de fungicidas químicos (BORO et al., 2022).

Analisando o potencial de *Trichoderma* spp. na inibição do crescimento de patógeno, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia *in vitro* de três concentrações de *Trichoderma harzianum* como agente de biocontrole de três isolados de *Colletotrichum theobromicola* associadas à antracnose em anonáceas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Comparação do crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum theobromicola* e *Trichoderma harzianum*

Primeiramente foi avaliado o crescimento micelial dos isolados de *C. theobromicola* (12 ALP, 58 ALG e 102 ALA) e do *T. harzianum* para observar a velocidade de crescimento entre os isolados e antagonista. O *T. harzianum* foi obtido a partir da diluição do produto comercial Trichodermil SC 1306/KOPPERT, nas concentrações 0,5; 1,0; e 1,5 L/ha, recomendadas pelo fabricante para fungos da parte aérea das culturas da soja (*Glycine max* L.) e abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merr.). Foram realizadas suspensões de esporos para os isolados de *C. theobromicola*, onde as mesmas foram calibradas com o auxílio da câmara de Neubauer para a concentração de  $2 \times 10^6$  conídios/mL. Para isto, discos de papel filtro ( $\varnothing$  5 mm) esterilizados foram mergulhados, por 30 segundos, nas suspensões de esporos dos isolados de *Colletotrichum* e *T. harzianum*, posteriormente, depositados separadamente no centro das placas de Petri (9 cm  $\varnothing$ ), contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA – Kasvi) sintético. As placas foram transferidas para uma câmara do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*), a temperatura de  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 h. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três isolados de *C. theobromicola* e o *T. harzianum*, cinco repetições, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri.

As avaliações foram obtidas a partir da medição diária, do diâmetro das colônias (cm/dia) tomadas no verso das placas em duas direções perpendiculares, com o auxílio de uma régua milimetrada.

### 2.2. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* sobre isolados de *Colletotrichum theobromicola* por pareamento.

As avaliações da atividade antagônica de *T. harzianum* sobre o crescimento *in vitro* de isolados de *C. theobromicola* foram realizadas de acordo com a metodologia de pareamento de culturas proposta por Dennis & Webster (1971), utilizando as concentrações 0,5; 1,0; 1,5 L/ha e a testemunha. Inicialmente, foram cultivados os isolados de *C. theobromicola* e o *T. harzianum*, separadamente, em placas de Petri contendo meio de cultura BDA sintético e incubados em câmara do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*), a temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 h, por sete dias, para obtenção das suspensões de conídios. As suspensões de conídios dos isolados de *C. theobromicola* foram coletadas raspando a superfície

das colônias com alça de Drigalski, em 10 ml de ADE e filtradas em camadas de gaze, para remover quaisquer detritos miceliais.

Os esporos foram contados em câmara de Neubauer e ajustado para  $2 \times 10^6$  conídios/mL. Posteriormente, discos de papel filtro ( $\varnothing$  5 mm) esterilizados foram umedecidos em suspensão de conídios, por 30 segundos, secos em papel filtro e transferidos para a extremidade de placas de Petri, contendo meio BDA sintético e incubadas em B.O.D., a temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 h, por 72 horas. Após este período, discos de papel filtro foram umedecidos nas diferentes concentrações de *T. harzianum* e, posteriormente, depositados na extremidade oposta das placas que foram inoculadas anteriormente com os isolados de *C. theobromicola*, exceto a testemunha, que se manteve apenas o patógeno ou o antagonista em uma das extremidades da placa. As placas foram vedadas novamente e transferidas para câmara de incubação (B.O.D.), a 25 °C com fotoperíodo de 12 h, permanecendo por 7 dias, contados a partir da primeira inoculação do patógeno.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial, com cinco repetições, constituídas por uma placa de Petri, sendo três isolados de *C. theobromicola* e três concentrações de *T. harzianum*.

As avaliações foram obtidas a partir da medição diária, do diâmetro das colônias (isolados de *C. theobromicola* e *T. harzianum*) tomadas no verso das placas em duas direções perpendiculares, com o auxílio de uma régua milimetrada, até o sétimo dia. O índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM; OLIVEIRA, 1991) e o cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC; BASTOS, 1997) foram determinadas de acordo com as fórmulas (1) e (2), respectivamente.

$$\boxed{1} \quad IVCM = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \frac{C_n}{N_n}$$

Onde:  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_n$  correspondem ao crescimento micelial na primeira, segunda e última avaliação; e  $N_1$ ,  $N_2$  e  $N_n$  correspondem ao número de dias após a inoculação.

$$\boxed{2} \quad PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}}$$

A escala proposta por Bell et al. (1982) foi usada para a avaliação do antagonismo, esta, por sua vez, atribui classes que variam de 1 a 5.

Nota 1 = Quando o antagonista cresce e ocupa toda a placa;

Nota 2 = Quando o antagonista cresce sobre parte do patógeno (2/3 da placa);

Nota 3 = Quando o antagonista e patógeno crescem até a metade da placa (nenhum domina o outro);

Nota 4 = O patógeno cresce e ocupa uma parte do antagonista (2/3 da placa);

Nota 5 = O patógeno cresce e ocupa toda a placa.

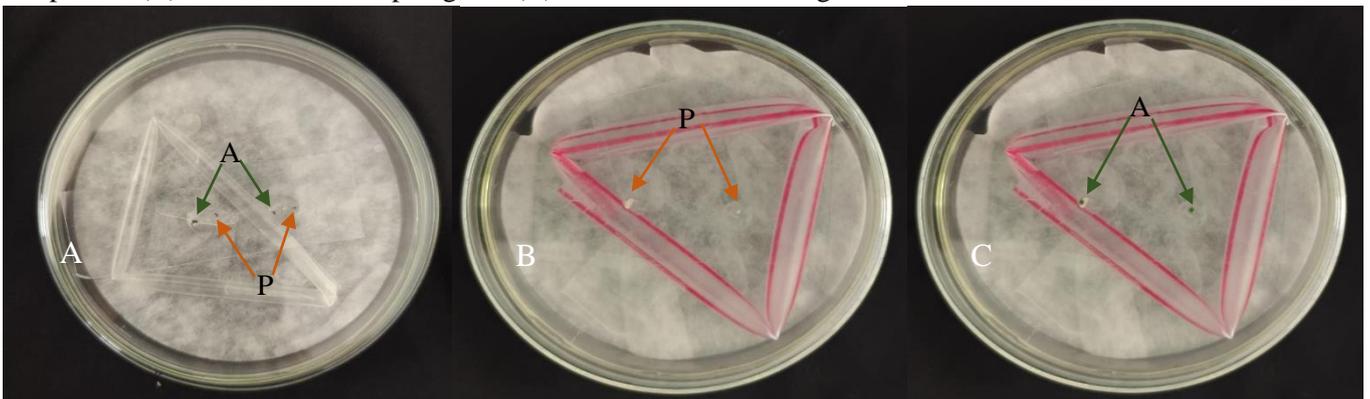
### 2.3. Mecanismo de ação do micoparasitismo entre isolados de *C. theobromicola* e *Trichoderma harzianum*.

Para observar diretamente a interação entre *T. harzianum* e *C. theobromicola*, foi avaliado o mecanismo de ação do micoparasitismo utilizando-se a técnica de pareamento de cultura, adaptada por Rufino, 2019.

Lâminas de microscopia foram acondicionadas dentro de placas de Petri, contendo papel filtro e esterilizadas. Posteriormente, adicionou-se sobre a lâmina 30  $\mu$ L de meio BDA sintético. Em seguida, sobre o meio de cultura transferiu-se uma pequena quantidade de micélio do patógeno e outro do antagonista, simultaneamente, em lados opostos do meio de cultura. As lâminas testemunhas continham apenas o antagonista ou o patógeno (Figura 1).

As placas contendo as lâminas foram incubadas em câmara do tipo B.O.D., à 25°C com fotoperíodo de 12 horas, durante três dias. Após o período de incubação, lamínulas foram adicionadas sobre as colônias e analisadas sob microscópio óptico para a constatação do micoparasitismo.

**Figura 1.** Teste de micoparasitismo no método de pareamento de cultura *T. harzianum* vs *C. theobromicola* em lâmina sobre placas de Petri, contendo o meio BDA. (A) –“A” antagonista e “P” patógeno em lados opostos. (B) - Testemunha do patógeno. (C) - Testemunha do antagonista.



#### **2.4. Ação de metabólitos voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum theobromicola***

Para avaliação do potencial inibidor de metabólitos voláteis produzido por *T. harzianum* sobre isolados de *C. theobromicola* foi realizado um teste adaptado da metodologia descrita por Bomfim et al. (2010). Disco de micélio (5 mm) dos três isolados de *Colletotrichum* foram depositados, separadamente, no centro das placas de Petri (90 mm de diâmetro), contendo meio de cultura BDA sintético. As placas foram vedadas e mantidas por 48 h em B.O.D., a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. Após esse período inicial de incubação foi transferido um disco de micélio de *T. harzianum* para o centro de novas placas de Petri, com as mesmas dimensões e contendo meio de cultura BDA sintético. As bases das placas contendo o antagonista e o patógeno foram sobrepostas, unidas e vedadas. Para testemunha foram utilizados fundos de placas de Petri contendo meio de cultura BDA, adicionando-se ao centro da placa um disco de micélio contendo as estruturas dos patógenos, separadamente, e no outro fundo apenas disco de meio BDA sintético sobre o meio de cultura, posteriormente, as placas foram sobrepostas e vedadas, mantidas em câmara de incubação sob a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 h, por sete dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, constituídas por uma placa de Petri, sendo três isolados de *C. theobromicola* e o *T. harzianum*. As avaliações foram obtidas a partir da medição diária, do diâmetro das colônias (isolados de *C. theobromicola* e *T. harzianum*), tomadas no verso das placas em duas direções perpendiculares, com o auxílio de uma régua milimetrada, até o sétimo dia.

O cálculo da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC; BASTOS, 1997) e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM; OLIVEIRA, 1991) foram determinadas de acordo com as fórmulas descritas no experimento anterior.

### **3. ANÁLISE DOS DADOS**

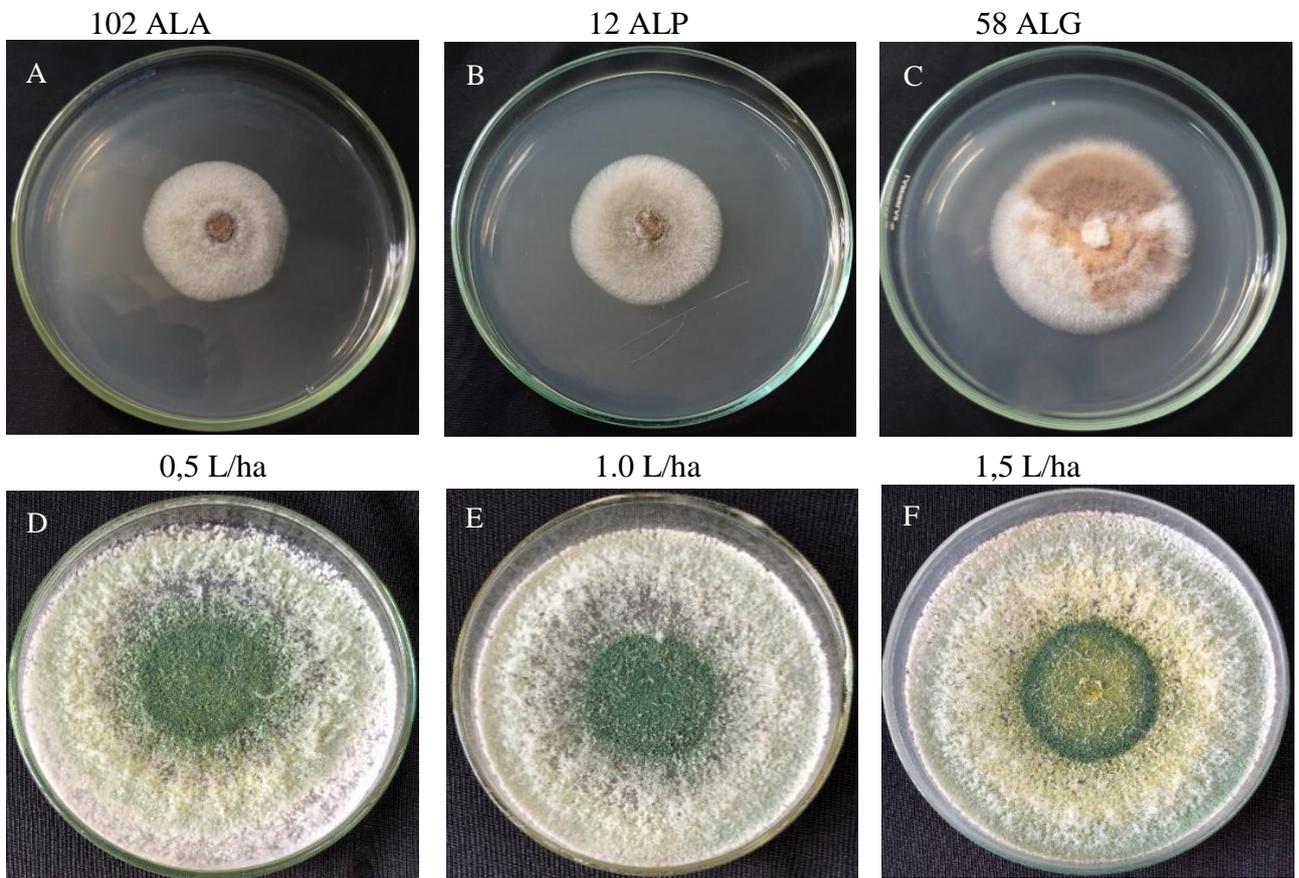
Os resultados dos experimentos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e de regressão linear as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, utilizando o programa estatístico Assistat (SILVA; AZEVEDO, 2016).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Comparação do crescimento micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* e *Trichoderma harzianum*

Observou-se uma uniformidade no crescimento micelial do antagonista *Trichoderma harzianum* (Cepa ESALQ 1306), após quatro dias, nas três concentrações testadas (0,5; 1,0; 1,5 L/ha). No entanto, os isolados de *C. theobromicola* mostraram um crescimento micelial inferior quando comparadas ao crescimento de *T. harzianum*, no mesmo período de tempo (Figura 2).

**Figura 2:** Crescimento micelial dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* (A, B, C) e *Trichoderma harzianum* (D, E, F), ao quarto dia.

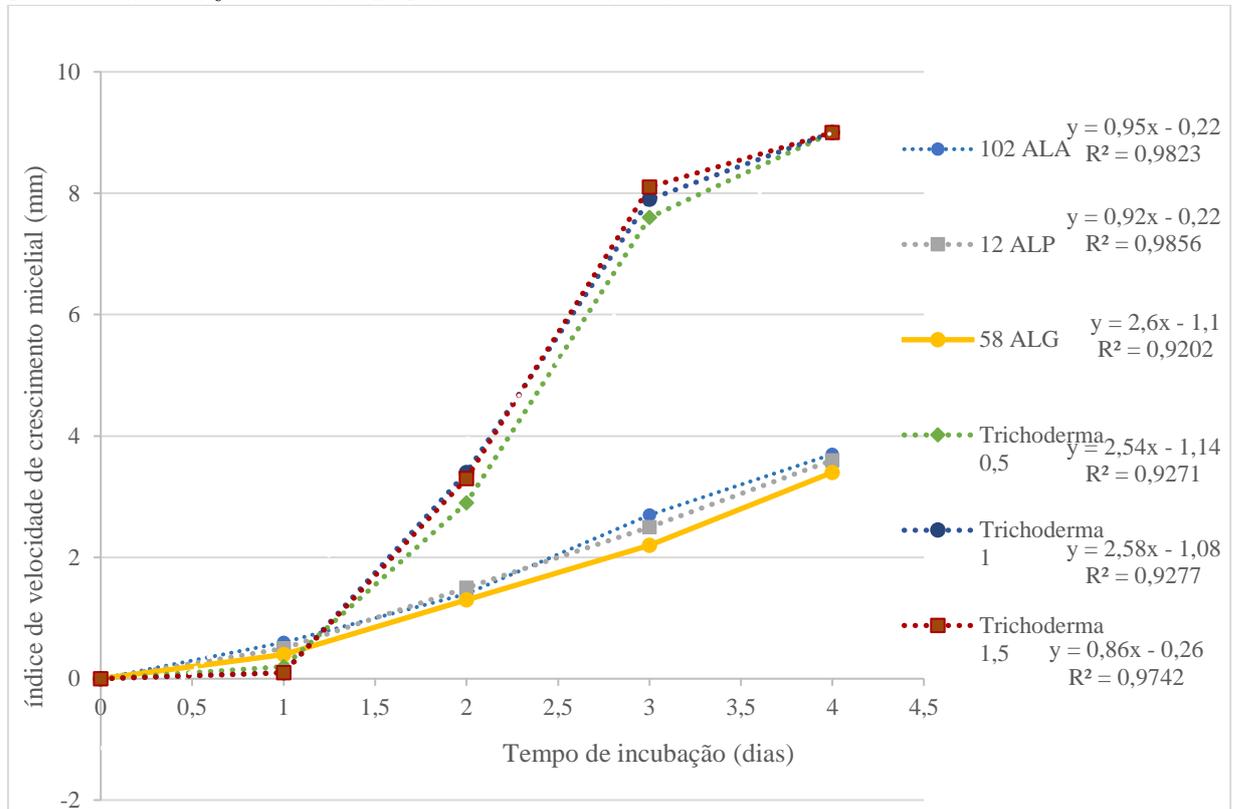


Fonte: Autora, 2024

Na avaliação do índice de crescimento micelial observa-se o comportamento diferenciado no crescimento micelial de *T. harzianum* em comparação com os isolados de *C. theobromicola* sob as mesmas condições experimentais e tempo de incubação. O fato de *T. harzianum* manter um diâmetro constante de colônia nas três concentrações testadas, indica que sua taxa de crescimento não é afetada pelas variações na concentração do biofungicida dentro

do intervalo testado. Em contraste, os isolados de *Colletotrichum* estudados mostraram índices de crescimento micelial inferiores e poucos variados, ao quarto dia de incubação (Figura 3).

**Figura 3.** Análise de regressão do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) do *Trichoderma harzianum* e dos isolados de *Colletotrichum theobromicola*.



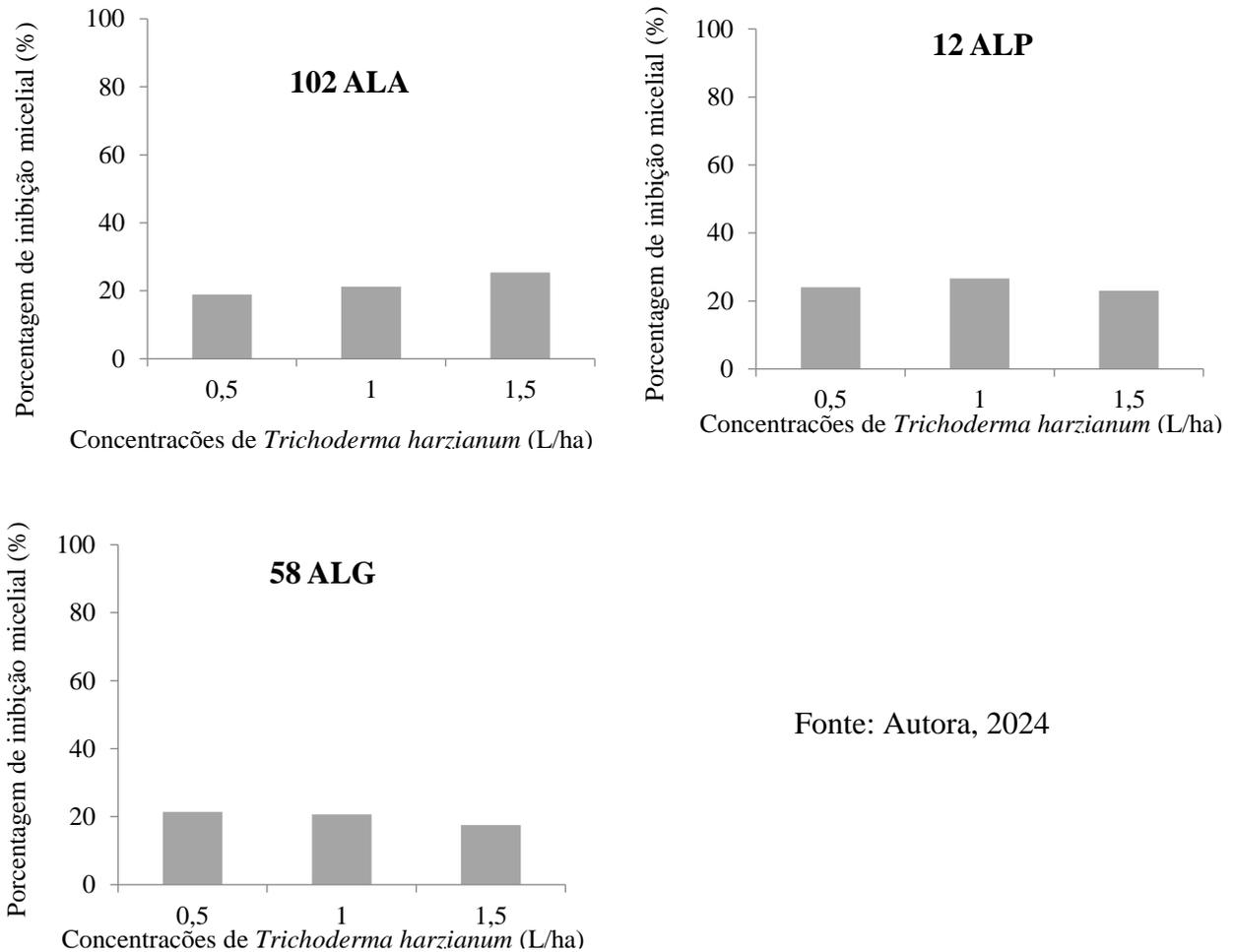
Fonte: Autora, 2024

#### 4.2. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* sobre isolados de *Colletotrichum theobromicola* por pareamento

Observa-se que o isolado 58ALG apresentou a menor porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), registrando 17,5% na concentração de 1,5 L/ha, enquanto o isolado 102 ALA obteve a maior PIC, com 25,35% (Figura 4). Na concentração de 1 L/ha, os isolados 102 ALA e 58 ALG exibiram comportamento semelhante, apresentando valores de 21,26% e 20,64%, respectivamente.

De forma geral, embora não haja diferença significativa entre os tratamentos e isolados, podemos observar que o isolado 102 ALA apresentou uma melhor resposta quando confrontado com o antagonista, alcançando 25,35% de inibição na concentração de 1,5 L/ha. Para o isolado 12 ALP, o melhor resultado foi obtido na concentração de 1 L/ha, com um valor de 26,57%, enquanto o isolado 58 ALG registrou 21,45% de inibição na concentração de 0,5 L/ha (Figura 4).

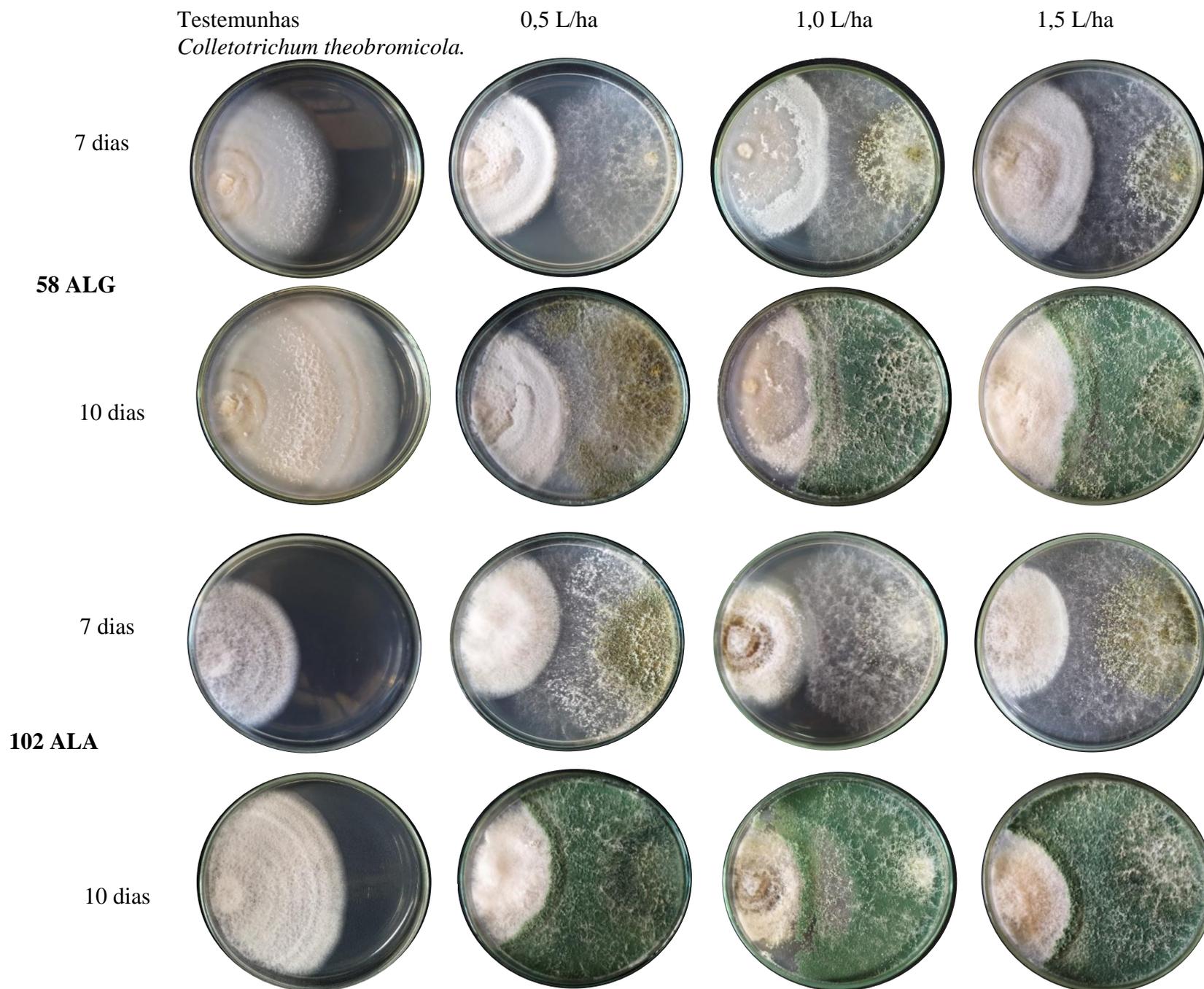
**Figura 4:** Porcentagem de inibição micelial (PIC) dos isolados de *Colletotrichum theobromicola* utilizando *Trichoderma harzianum*, aos 7 dias.

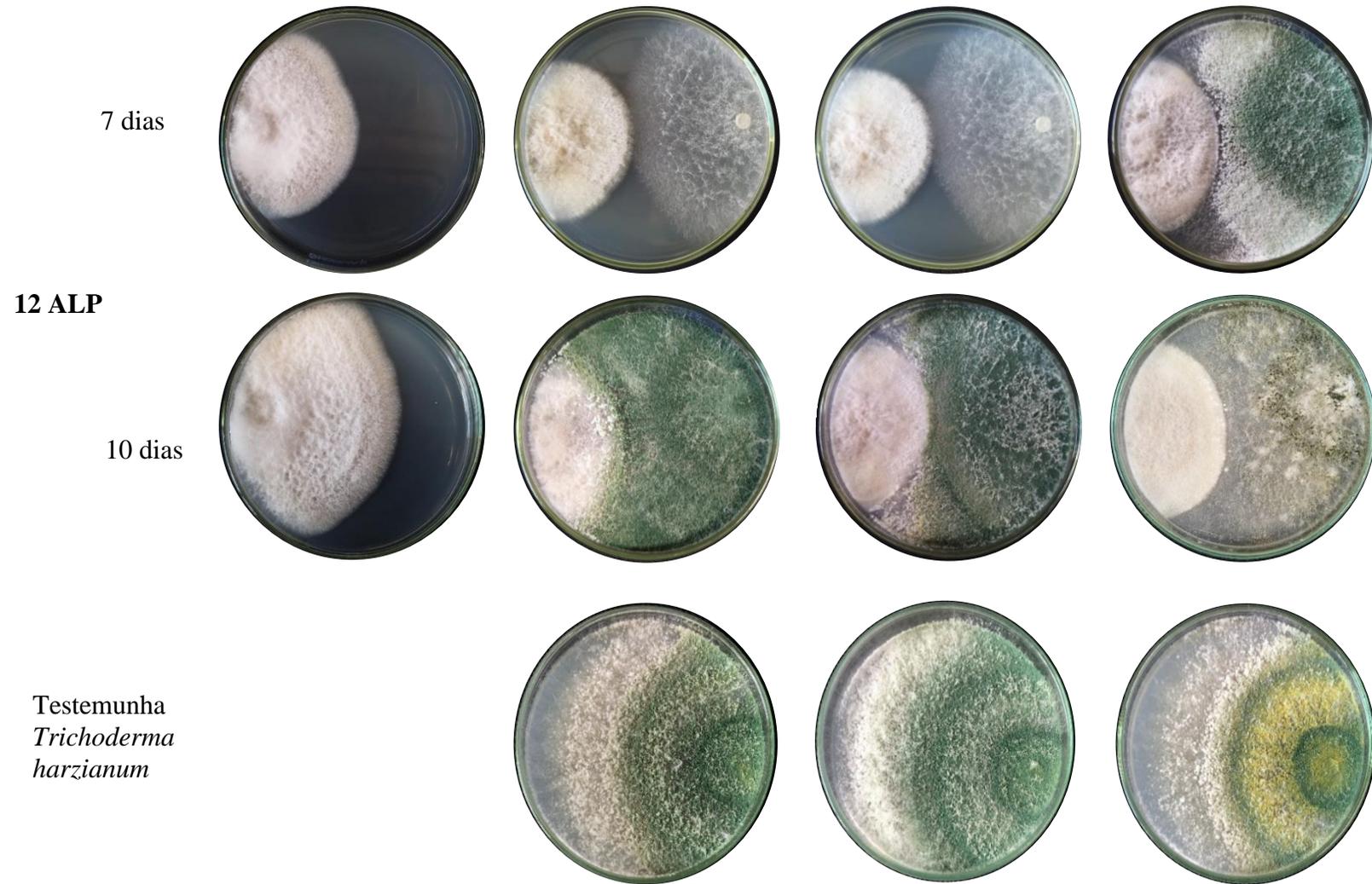


De acordo com a escala de Bell et al. (1982), os isolados foram classificados como antagonistas. A figura ilustra o antagonismo das diferentes concentrações testadas (0,5, 1,0 e 1,5 L/ha) em relação aos isolados de *C. theobromicola*, aos 7 e 10 dias.

Verificou-se que não houve diferença entre os isolados, uma vez que todos eles receberam a nota 2, indicando que o *Trichoderma* inibiu o crescimento dos patógenos (Figura 5).

**Figura 5:** Teste de pareamento utilizando *Trichoderma harzianum* e isolados de *Colletotrichum theobromicola*

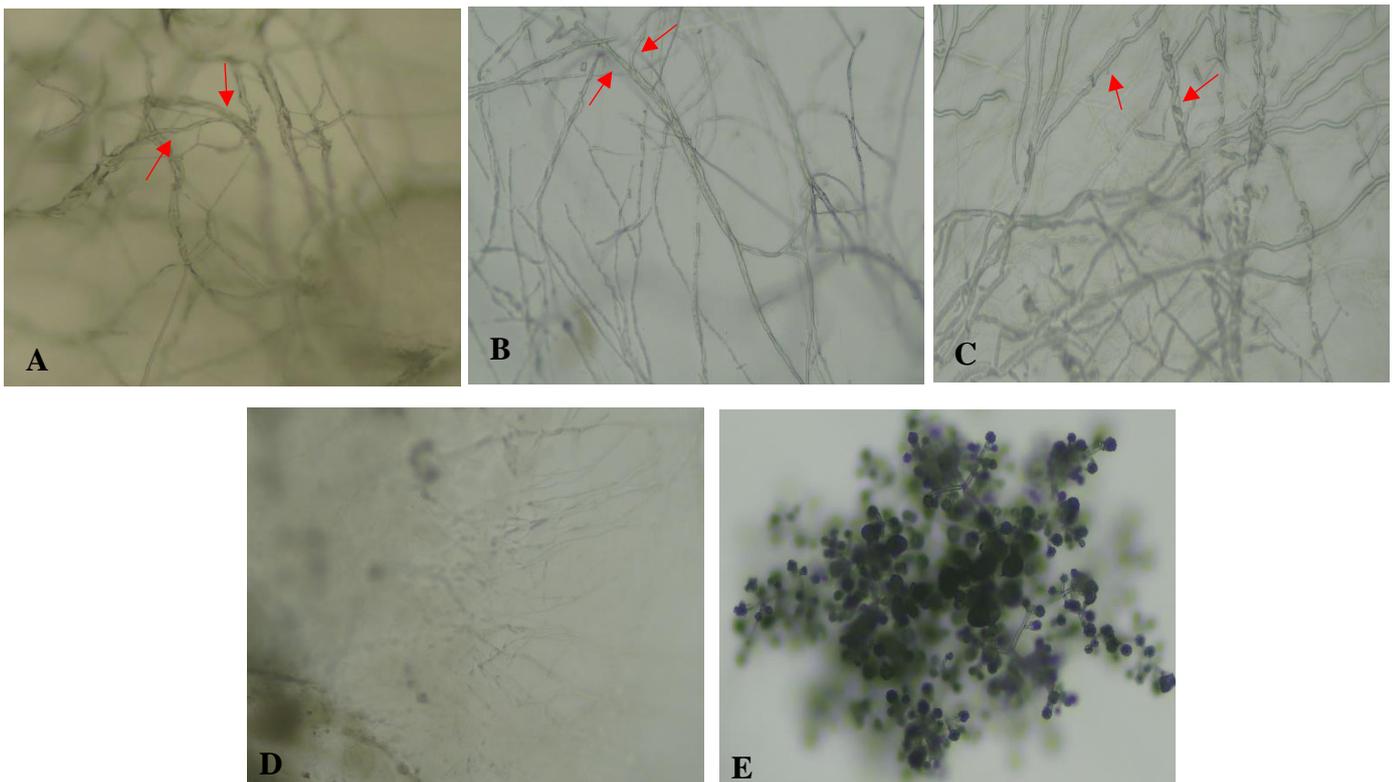




#### 4.3. Mecanismo de ação do micoparasitismo entre isolados de *Colletotrichum theobromicola* e *Trichoderma harzianum*

Observou-se que *T. harzianum* causou enrolamento e/ou estrangulamento das hifas de *C. theobromicola*, pois *T. harzianum* reconheceu as hifas do patógeno e respondeu com ações diretas que comprometeu o crescimento e a sobrevivência do fungo. O enrolamento das hifas que observamos, é sinal típico de micoparasitismo, no qual o *T. harzianum* cresceu ao redor das hifas do patógeno, o contato entre as hifas eram estruturas semelhantes a uns ganchos, os quais restringiam seu crescimento e, eventualmente, levando à degradação celular. Assim, foi possível visualizar a granulação das hifas e da parede celular em comparação a testemunha do antagonista e patógeno (Figura 6).

**Figura 6:** Micoparasitismo: interação de hifas de *T. harzianum* versus *C. theobromicola*. (A, B) – Enrolamento das hifas. (C) - Degradação e enrolamento das hifas. (D) – Testemunha do patógeno e (E) – Testemunha do antagonista.



Fonte: Autora, 2024

#### 4.4. Ação de metabólitos voláteis de *Trichoderma harzianum* sobre o crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum theobromicola*

Os dados referentes aos experimentos com metabólitos voláteis indicaram que o *T. harzianum* reduziu o crescimento dos isolados de *C. theobromicola* quando comparados com

suas respectivas testemunhas. Ao término da avaliação da ação dos metabólitos voláteis, no sétimo dia, foi possível verificar que o isolado 58 ALG obteve o maior crescimento micelial (3,48 cm) em comparação com os isolados 102 ALA e 12 ALP, que exibiram valores de 3,36 e 3,37 cm, respectivamente (Tabela 1, Figura 7). Em relação à PIC, os isolados 12ALP e 58ALG diferiram estatisticamente entre si, porém, o isolado 102ALA não diferiu de 12ALP e nem de 58ALG. No entanto, observa-se ainda que o isolado 58ALG apresentou a maior porcentagem de inibição do crescimento micelial (30,80%) (Tabela 1).

**Tabela 1:** Índice de velocidade de crescimento micelial e percentual de inibição micelial *in vitro* de isolados de *Colletotrichum theobromicola* no teste de metabólitos voláteis com *Trichoderma harzianum*.

	IVCM (cm) ( <i>C. theobromicola</i> )	IVCM (cm) Interação I x T	PIC (%) Interação I x T
102 ALA	3,93 bA	3,36 aB	24,18 ab
12 ALP	3,59 bA	3,37 aA	17,50 b
58 ALG	4,52 aA	3,48 aB	30,80 a
Isolados (I)	11,22 **		
Tratamento (T)	45,31 **		7,91 **
Interação (I x T)	6,99 **		
CV (%)	6,72		21,87

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey.

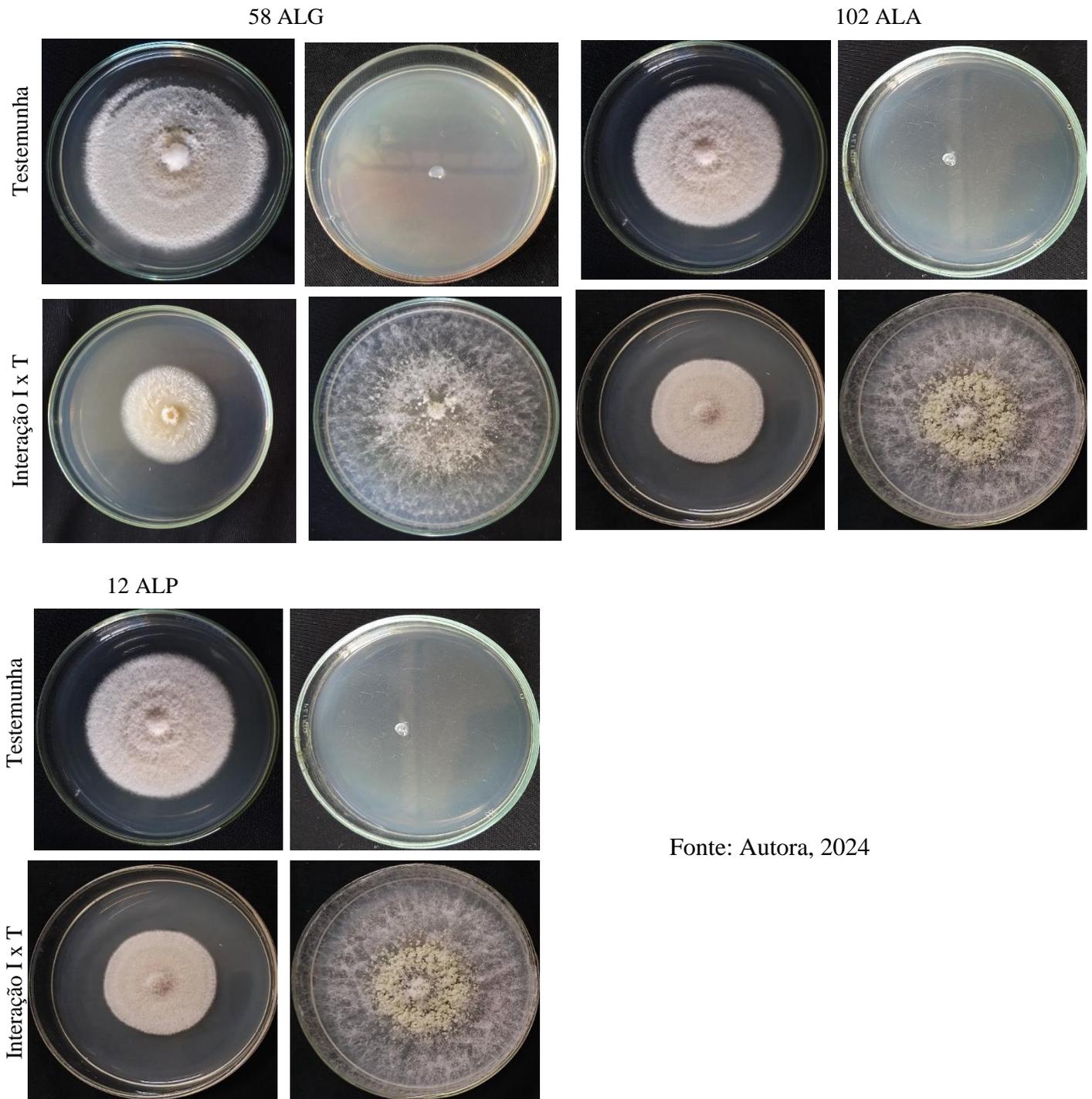
(\*\*) Significativo a 1% de probabilidade ( $p < .01$ ).

(\*) significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ ).

CV= Coeficiente de variação.

Fonte: Autora, 2024

**Figura 7:** Teste de metabólitos voláteis utilizando *Trichoderma harzianum* no controle de isolados de *Colletotrichum theobromicola*.



Fonte: Autora, 2024

## 5. DISCUSSÃO

Considerando a variabilidade nos níveis de agressividade dos isolados de *C. theobromicola*, e a fim de aumentar a eficiência do controle de doenças, um manejo integrado incluindo o uso de fungicidas eficazes e o uso de agentes de biocontrole podem ser viáveis para controlar a disseminação da doença.

Atualmente, os produtos biológicos estão se tornando cada vez mais populares. Entre eles, os fungos do gênero *Trichoderma*, que têm sido amplamente utilizados como agentes de controle biológico em sistemas de manejo de doenças de plantas. Essa prática tem sido extensivamente estudada e tem trazido importantes benefícios (TORDIN, 2024).

Diversos autores destacam as vantagens do *T. harzianum* no controle de fitopatógenos, especialmente pela sua capacidade de competição por espaço e nutrientes, devido ao rápido crescimento micelial. Medeiros, Silva e Pascholati (2018), Meyer, Mazaro e Silva (2019), e Quevedo et al. (2022) reforçam que essa competição eficaz com outros microrganismos, incluindo patógenos, impede que estes se estabeleçam na planta hospedeira. Além disso, o *T. harzianum* atua por mecanismos como a produção de enzimas líticas e compostos antimicrobianos, promovendo um controle biológico eficiente e sustentável, o que o torna uma ferramenta importante no manejo integrado de doenças.

No caso do produto comercial Trichodermil, exerce sua ação por meio de diferentes mecanismos: antagonismo, parasitismo e antibiose. No antagonismo, o *T. harzianum* compete com outros microrganismos fitopatogênicos por espaço e nutrientes, inibindo seu crescimento ao ocupar o ambiente antes que os patógenos se estabeleçam. No parasitismo, o *T. harzianum* age diretamente sobre os patógenos, degradando suas estruturas vegetativas, reprodutivas e de resistência, tornando-os inviáveis. Já no mecanismo de antibiose, o fungo produz uma série de metabólitos como proteases, lipases, glucanases e quitinases, que têm ação degradativa sobre a parede celular de fungos fitopatogênicos, contribuindo para sua inativação (TRICHODERMIL SC 1306 - KOPPERT, 2023).

Ao avaliar o produto biológico, Trichodermil SC 1306/KOPPERT à base de *T. harzianum* para o controle dos isolados de *C. theobromicola*, observou-se que houve comportamento semelhantes no crescimento micelial dos isolados, nas concentrações testadas, apresentando um antagonismo considerável. Isso indica que *T. harzianum* mantém um crescimento eficaz, independente da variação dessas concentrações específicas, o que pode ser um indicativo de sua eficiência como agente de controle biológico em diferentes dosagens. Além disso, o micoparasitismo desempenha um papel importante, pois o *Trichoderma* pode

infectar diretamente o fitopatógeno por meio de penetração e colonização das hifas, além de degradar enzimaticamente e consumir os nutrientes presentes nas hifas do fungo fitopatogênico (SUASSUNA et al. 2019).

Os resultados de Quevedo et al. (2022) relatam a ação antagonista *in vitro* de *Trichoderma* spp., no controle de *Fusarium oxysporum*, observando uma porcentagem de inibição de 14,24%, valor próximo aos encontrados neste estudo. Satapathy; Beura (2020) destacam a eficácia do biocontrole *in vitro* de estirpes de *Trichoderma* spp. sobre *C. gloeosporioides*, obtidos de caju (*Anacardium occidentale*), no qual encontraram percentuais de inibição do crescimento micelial entre 74,5 a 84,9%, sendo 77,4% para *T. harzianum*. Da mesma forma, Majaw; Kayang (2018) ao testarem o controle *in vitro* de *C. gloeosporioides*, isolado de folhas de gengibre (*Zingiber officinale*), observaram valores de inibição correspondendo a 61,5% para *T. harzianum* e 58,6% para *T. koningiopsis*.

Na avaliação do crescimento dos isolados de *C. theobromicola*, quando submetidos aos metabólitos voláteis, produzidos por *T. harzianum* mediante a metodologia de placas sobrepostas, foi possível verificar uma inibição do crescimento micelial do patógeno. O crescimento médio das colônias de *C. theobromicola* foi de 3,40 cm, o que representa uma redução de 24% em relação ao tratamento testemunha. Os metabólitos voláteis produzidos por *Trichoderma* são substâncias com ação tóxica, que possuem a capacidade de reduzir ou paralisar o crescimento e a esporulação do patógeno (BOMFIM et al., 2010).

Assim, vários estudos corroboram com a eficácia dos metabólitos voláteis produzidos pelo *Trichoderma* no controle de diferentes fitopatógenos, incluindo *Colletotrichum* spp. Tal efeito também foi relatado por Fantinel et al. (2018) obtendo uma redução de 44,2% das colônias de *C. siamense*, em função da ação inibitória dos metabólitos produzidos por *Trichoderma*. Barbosa et al. (2021) demonstraram uma redução significativa no crescimento micelial de *C. musae*, quando exposto aos metabólitos voláteis do *Trichoderma*, com percentuais de inibição variando de 47% a 74%.

Suassuna et al. (2019) afirmaram que o efeito inibitório observado nos metabólitos voláteis produzidos pelo *Trichoderma* pode ser atribuído a diversos mecanismos, incluindo a competição por nutrientes e espaço no meio de cultura.

Os resultados obtidos tanto neste experimento como os já realizados, sugerem que a eficácia do *Trichoderma* como agente de controle biológico pode variar dependendo do patógeno-alvo e das condições específicas do ambiente de cultivo. Embora os resultados obtidos no presente estudo indiquem um acentuado antagonismo contra isolados de *C.*

*theobromicola*, a eficácia do *Trichoderma* pode ser mais pronunciada em outros patossistemas, como em *Anacardium occidentale* (SATAPATHY; BEURA, 2020) e *Vicia faba* (YONES; KAYIM, 2021).

De acordo com os resultados obtidos, ao utilizar o *T. harzianum* no controle de *C. theobromicola*, observamos possíveis mecanismos de interação, como a competição de espaço, produção de voláteis, um provável parasitismo e antibiose, no entanto, é necessário a realização de mais experimentos para confirmar essa interação e a identificação dos metabolitos presentes no *T. harzianum*.

## 6. CONCLUSÃO

O Trichodermil SC 1306/KOPPERT (*Trichoderma harzianum*) apresenta ação antagonista aos isolados de *Colletotrichum theobromicola*.

## REFERÊNCIAS

- BETTIOL, W.; SILVA, J.C.; CASTRO, M.L.M.P. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. *Trichoderma: uso na agricultura*. (ed.). Brasília: Embrapa, 2019.
- BOMFIM, M. P.; JOSÉ, A. R. S.; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B.; DIAS, N. O. Antagonic effect *in vitro* and *in vivo* of *Trichoderma* spp. to *Rhizopus stolonifer* in yellow passion fruit. **Summa phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.
- FAVARETTO, R. F.; SARZI, J. S. Biocontrole *in vitro* de *Colletotrichum siamense* utilizando *Trichoderma* spp. e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Ciência Agrícola**. v. 16, n. 3, p. 43-50, 2018.
- FIGUEIRA, E. P. P.; KUHN, O. J.; PORTZ, T. M.; STANGARLIN, J. R.; PEREIRA, M. D. P.; LAMPUGNANI, C. Histochemical changes induced by *Trichoderma* spp. And potassium phosphite in common bean (*Phaseolus vulgaris*) in response to the attack by *Colletotrichum lindemuthianum*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 41, n. 3, p. 811-828, 2020.
- HERMOSA, R.; CARDOZA, R. E.; RUBIO, M. B.; GUTIÉRREZ, S.; MONTE, E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. In: GUPTA, V. K.; SCHMOLL, M.; HERRERA-ESTRELLA, A.; UPADHYAY, R. S.; DRUZHININA, I.; TUOHY, M. **Biotechnology and biology of Trichoderma**. (Ed.). Amsterdam: Elsevier, 2014, p. 125-137.
- MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. *Trichoderma: uso na agricultura*. (ed.). Brasília: Embrapa, 2019.
- QUEVEDO, A. C.; MUNIZ, M. F. B.; SAVIAN, L. G.; SARZI, J. S.; SALDANHA, M. A. *In vitro* antagonist action of *Trichoderma* spp. about *Fusarium oxysporum*. **Ciência Florestal**, v. 32, n. 4, p. 2288-2303, 2022.
- SATAPATHY, R. R.; BEURA, S. K. Management of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) causing cashew anthracnose through bio-control agents. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 9, n. 1, p. 2225-2227, 2020.
- SUASSUNA, N. D.; SILVA, J. C.; BETTIOL, W. Uso do *Trichoderma* na cultura do algodão In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília: **Embrapa**, 2019, 538p.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Manejo Integrado de Doenças (MID) é uma abordagem sustentável que combina métodos de controle para minimizar o impacto ambiental, reduzir a dependência de produtos químicos e garantir a viabilidade econômica e social do sistema agrícola, considerando vários fatores, desde a interação ecológica entre organismos e os recursos naturais disponíveis, promovendo a sustentabilidade a longo prazo.

Os principais componentes do MID abrangem uma série de práticas que visam monitorar, identificar e controlar patógenos de maneira sustentável e eficaz. Essas práticas são fundamentais para garantir uma abordagem preventiva e minimizar o impacto ambiental. Portanto é necessário realizar um monitoramento contínuo das condições da lavoura para detectar a presença inicial de doenças, permitindo ações rápidas e preventivas, assim como a identificação precisa dos patógenos presentes e avaliar o nível de ameaça das doenças. Por tanto os resultados obtidos neste trabalho indicam que os experimentos são cruciais para entender a eficácia dos fungicidas contra diferentes isolados de *Colletotrichum*, fornecendo orientações importantes para seu uso no campo. Assim também ao identificar a capacidade de quais espécies e/ou isolados são mais ou menos suscetíveis a determinados fungicidas permite uma aplicação mais direcionada e eficaz desses produtos, maximizando seu potencial de controle da antracnose.

Além do uso do manejo químico, a busca por soluções para o controle de doenças, como a antracnose, reflete uma crescente conscientização, portanto, o controle biológico, dentro do manejo integrado de doenças, deve ser usado em associação com outras estratégias de controle. Esses componentes, quando aplicados de forma integrada, ajudam a manter um sistema agrícola produtivo e sustentável, reduzindo impactos ambientais e fortalecendo a resistência natural das culturas a doenças.

## ANEXO

**Anexo 1.** Códigos de acesso no GenBank das espécies do Complexo *Colleotrichum gloeosporioides* utilizados na análise filogenética do presente estudo.

Espécies	Isolados	Aceso no GenBank			
		GAPDH	ITS	TUB	APMAT
<i>C. aenigma</i>	ICMP18608	JX010044	JX010244	JX010389	MG717319
<i>C. aenigma</i>	ICMP18686	JX009913	JX010243	JX010390	KM360143
<i>C. aeschynomenes</i>	ICMP:17673	JX009930	JX010176	JX010392	KM360145
<i>C. alatae</i>	CBS30467	JX010011	JX010191	JX010449	-
<i>C. alatae</i>	C1275.5	JX009990	JX010190	JX010383	KC888932
<i>C. alienum</i>	ICMP12071	JX010028	JX010251	JX010411	KC888927
<i>C. alienum</i>	ICMP18621	JX009959	JX010246	JX010386	-
<i>C. aotearoa</i>	ICMP17326	JX010049	JX010202	JX010422	-
<i>C. aotearoa</i>	ICMP18537	JX010005	JX010205	JX010420	KC888930
<i>C. arecicola</i>	cb7	MW557459	MW561339	MW557477	MW557495
<i>C. arecicola</i>	hb8	MW557464	MW557482	MW557482	MW557500
<i>C. artocarpicola</i>	MFLUCC 18_1167	MN435568	NR_171192	MN435567	-
<i>C. asianum</i>	ICMP18580	JX010053	NR_119731	JX010406	FR718814
<i>C. asianum</i>	ICMP 18696	JX009915	JX010192	JX010384	-
<i>C. australianum</i>	BRIP63700	MN442118	-	-	-
<i>C. avicenniae</i>	MFLUCC 23-0289	-	-	OR886396	-
<i>C. boninense</i>	ICMP 17904	JX009905	JX010292	-	-
<i>C. camelliae</i>	LC1364	JN936985	KJ955081	JN936976	KJ954497
<i>C. changpingense</i>	CGMCC:3.17582	MZ664048	-	MZ673952	-
<i>C. cigarro</i>	ICMP 18539	JX009966	NR_120138	-	-
<i>C. cigarro</i>	CBS 12422	JX009950	JX010228	JX010433	-
<i>C. clidemiae</i>	ICMP18658	JX009989	JX010265	JX010438	KC888929
<i>C. clidemiae</i>	ICMP 18706	JX009909	JX010274	JX010439	-
<i>C. cobbittiense</i>	BRIP66219a	MH094133	MH087016	MH094137	-
<i>C. conoides</i>	CAUG17	KP890162	KP890168	KP890174	-
<i>C. conoides</i>	JZB330285	OL471146	OL413450	OL471170	-
<i>C. cordylinicola</i>	ICMP18579	JX009975	JX010226	JX010440	MZ543983
<i>C. dracaenigenum</i>	MFLUCC 190131	-	MN921251	-	-
<i>C. dracaenigenum</i>	MFLUCC 190430	MT215577	MN921250	-	-
<i>C. endophytica</i>	LC0324	KC832854	KC633854	-	-
<i>C. fructicola</i>	ICMP 18581	JX010033	JX010165	JX010405	JQ807838
<i>C. fructicola</i>	ICMP 18727	JX010035	JX010179	JX010394	-
<i>C. fructivorum</i>	CBS133125	MZ664047	-	-	-
<i>C. gardeniae</i>	GUCC 12049	OP737963	OP722995	OP720858	-
<i>C. gloeosporioides</i>	ICMP 12939	JX009931	JX010149	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	ICMP17821	JX010056	JX010152	JX010445	JQ807843
<i>C. grevilleae</i>	CBS 132879	KC297010	KC297078	KC297102	-
<i>C. grossum</i>	CAUG7	KP890159	KP890165	KP890171	MG826119
<i>C. grossum</i>	CVG437	MT292055	-	MT292094	-
<i>C. hebeiense</i>	K3	KF377495	KF156863	KF288975	KF377562
<i>C. helleniense</i>	CPC 26844	KY856270	NR_152310	KY856528	MW368907
<i>C. helleniense</i>	CPC27108	KY856273	KY856449	KY856531	-

<i>C. henanense</i>	LF25	KM610179	KM610183	KM610185	KM610175
<i>C. henanense</i>	LF238	KJ954810	KJ955109	KJ955257	KJ954524
<i>C. horii</i>	C11801	GQ329690	GQ329690	JX010450	JQ807840
<i>C. hystricis</i>	CPC 28154	KY856275	KY856451	KY856533	-
<i>C. hystricis</i>	CPC 28153	KY856274	NR_152311	KY856532	-
<i>C. jiangxiense</i>	LF687	KJ954902	KJ955201	KJ955348	KJ954607
<i>C. jiangxiense</i>	LF488	KJ954850	KJ955149	OK236389	KJ954561
<i>C. kahawae</i>	ICMP 17816	JX010012	GU174550	JX010444	JQ899282
<i>C. kahawae</i>	CBS 982.69	JX010040	JX010227	JX010435	-
<i>C. ligustri</i>	GUCC 12111	OP737968	OP722988	OP720864	-
<i>C. makassarensis</i>	CPC28612	MH728820	NR_171184	MH846563	MH728831
<i>C. musae</i>	IMI 52264	JX010015	JX010142	JX010395	-
<i>C. musae</i>	CBS116870	HQ596299	HQ596292	HQ596280	KC888926
<i>C. nupharicola</i>	CBS 472.96,	-	-	-	JX145320
<i>C. nupharicola</i>	ICMP 18187	JX009972	JX010187	JX010398	JX145319
<i>C. pandanicola</i>	MFLUCC 17-0571	MG646934	MG646967	MG646926	-
<i>C. perseae</i>	GA100	KX620242	KX620308	KX620341	KX620177
<i>C. perseae</i>	GA272	KX620255	KX620321	KX620354	-
<i>C. proteae</i>	CBS 132882	KC297009	NR_160995	KC297101	-
<i>C. proteae</i>	CBS 134302	KC842380	KC842386	KC842388	-
<i>C. psidii</i>	CBS14529	JX009967	JX010219	JX010443	KC888931
<i>C. queenslandicum</i>	ICMP 1778	JX009934	JX010276	JX010414	KC888928
<i>C. rhexiae</i>	CBS 133134 *	MZ664046	NR_144797	-	JX145290
<i>C. salsolae</i>	ICMP 19051	JX009916	NR_120139	JX010403	KC888925
<i>C. salsolae</i>	CBS 119296	JX009917	JX010241	-	-
<i>C. siamense</i>	ICMP 18578	JX009924	JX010171	JX010404	JQ899289
<i>C. siamense</i>	CPC30223	MH707458	MH707477	MH846553	MH713891
<i>C. syzygiicola</i>	DNCL021	KF242156	KF242094	KF254880	KP743473
<i>C. syzygiicola</i>	DNCL018	KF242155	KF242093	KF254879	-
<i>C. tainanense</i>	UOM1290T	MH728819	-	-	-
<i>C. tainanense</i>	CPC30245	-	MH728818	MH846558	MH728836
<i>C. temperatum</i>	CBS 133122	-	MH877532	MZ664045	JX145298
<i>C. temperatum</i>	JZB330281	OL471118	OL374048	OL471142	-
<i>C. thasutense</i>	MFLU 22-0206	OP831282	-	OP831283	-
<i>C. theobromicola</i>	CBS 124945	JX010006	JX010294	JX010447	KC790726
<i>C. theobromicola</i>	ICMP 17895	JX010051	JX010162	JX010393	-
<i>C. ti</i>	ICMP5285	JX009910	JX010267	JX010441	-
<i>C. ti</i>	ICMP4832	JX009952	JX010269	JX010442	KM360146
<i>C. tropicale</i>	GC3	MT648519	MT555315	MT648526	MT648529
<i>C. tropicale</i>	CBS 124949	JX010007	JX010264	JX010407	KC790728
<i>C. viniferum</i>	YG1	JN412798	JN412804	JN412813	-
<i>C. wuxiense</i>	JS1A32	KU252045	KU251591	KU252200	KU251722
<i>C. wuxiense</i>	PAFQ54	MG747928	MG748010	MG748092	-
<i>C. xanthorrhoeae</i>	ICMP 17820	JX010008	JX010260	-	-
<i>C. xanthorrhoeae</i>	BRIP 45094	JX010448	JX010261	JX009927	KC790689
<i>C. yulongense</i>	CFCC 50818	MK108986	MH751507	MK108987	-