

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRARIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

JÚLIO NAYAN CARDOSO DE SANTANA

**AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* OBTIDAS DO
MARACUJAZEIRO A *Bacillus* spp.**

Rio Largo - AL

2025

JÚLIO NAYAN CARDOSO DE SANTANA

**AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* OBTIDAS DO
MARACUJAZEIRO A *Bacillus* spp.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Alagoas - UFAL,
Campus de Engenharias e Ciências Agrárias –
CECA, como parte dos requisitos para obtenção
do título de Engenheiro Agrônomo

Orientadora: Profa. Dra. Jaqueline Figueredo de
Oliveira Costa.

Rio Largo - AL

2025

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

S232a Santana, Júlio Nayan Cardoso de.

Avaliação da sensibilidade de espécies de espécies de *Colletotrichum* obtidas do maracujazeiro a *Bacillus* spp. / Júlio Nayan Cardoso de Santana. – 2025.

41 f.: il.

Orientador: Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa.

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

Inclui bibliografia

1. Biocontrole. 2. Biofungicidas. 3. *Passiflora*. I. Título.

CDU: 582.28: 634.776.3

Folha de Aprovação

JÚLIO NAYAN CARDOSO DE SANTANA

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* OBTIDAS DO MARACUJAZEIRO A *Bacillus* spp.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do curso de agronomia, do
Campus de Engenharia e Ciências Agrárias da
Universidade Federal de Alagoas –
CECA/UFAL e aprovado em 30 de abril de
2025.

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente



JAQUELINE FIGUEREDO DE OLIVEIRA COSTA

Data: 06/05/2025 16:00:16-0300

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

Profa. Dra. Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa

Documento assinado digitalmente



JACKELINE LAURENTINO DA SILVA

Data: 06/05/2025 17:07:22-0300

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

Dra. Jackeline Laurentino da Silva

Documento assinado digitalmente



MARIA DE FATIMA SILVA MUNIZ

Data: 06/05/2025 21:21:00-0300

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

Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em especial, à minha avó, cuja presença, incentivo e carinho foram fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui. Sua força e dedicação sempre foram fonte de inspiração em minha trajetória.

À minha orientadora, Dra. Jaqueline Figueiredo, expresse minha sincera gratidão pela orientação atenta, paciência e valiosos ensinamentos que contribuíram significativamente para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus familiares, pelo apoio incondicional e encorajamento ao longo de toda a minha formação.

Aos amigos e colegas que caminharam comigo durante o curso, pela amizade, colaboração e companheirismo nos momentos de aprendizado e superação.

Estendo meus agradecimentos a todos que fazem parte do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA-UFAL), pela estrutura, suporte e qualidade de ensino oferecidos durante esses cinco anos de formação acadêmica.

RESUMO

Originário de regiões tropicais, o maracujazeiro (*Passiflora edulis*) encontra no Brasil condições excelentes para seu cultivo, sendo este um dos fatores para a maior produção mundial. Entraves como problemas fitossanitários veem comprometendo a produção nacional. A antracnose causada por espécies do gênero *Colletotrichum* está presente em todas as regiões produtoras da cultura. O objetivo do trabalho foi avaliar *in vitro* os efeitos de isolados de *Bacillus subtilis* (R14 e IN937b) e da mistura comercial de *B. subtilis* e *B. licheniformis* sobre o crescimento micelial de espécies de *Colletotrichum plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. tropicale*, *C. theobromicola* e *C. fructicola*. Para o teste de pareamento, foram utilizados isolados de *Bacillus* cultivados em meio Ágar nutritivo-Dextrose-Extrato de levedura (NYDA) e espécies de *Colletotrichum* cultivadas em meio de Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Espécies de *Colletotrichum* foram inoculadas no centro de placas de Petri contendo meio BDA sintético, enquanto as bactérias antagonistas foram inoculadas individualmente em ambos os lados dos fitopatógenos. Para testemunha, as placas foram inoculadas apenas com os fitopatógenos. As placas de Petri foram incubadas durante sete dias a 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 12 horas. Para verificar a diferença entre os tratamentos, foram estimados o índice de Velocidade do Crescimento Micelial (IVCM) e a Porcentagem de Inibição de Crescimento micelial (PIC). No IVCM, os tratamentos com *B. subtilis* e a mistura comercial de *B. subtilis* e *B. licheniformis* diferiram significativamente das testemunhas para todas as espécies estudadas. As melhores PICs foram obtidas no tratamento com os isolados R14 e IN937b. Além disso, foi realizada uma avaliação da ação de metabólitos voláteis produzidos pelos isolados de *B. subtilis* e pela mistura comercial de *B. subtilis* e *B. licheniformis* sobre o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum*. Após a incubação em meio líquido à base de batata-dextrose por sete dias, os caldos fermentados foram centrifugados e esterilizados em autoclave antes da aplicação no meio BDA. A avaliação consistiu na medição do diâmetro das colônias de *Colletotrichum* spp. incubadas por sete dias. Os resultados evidenciaram diferenças no índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e nas porcentagens de inibição de crescimento micelial (PIC), com os isolados R14 e IN937b mostrando maior eficácia sobre espécies específicas, como *C. brevisporum* e *C. tropicale*. *B. subtilis* é uma espécie promissora para a redução do crescimento micelial de *Colletotrichum* spp., associadas à antracnose na cultura do maracujazeiro.

Palavras-chave: Biocontrole; Biofungicidas; *Passiflora*.

ABSTRACT

Originally from tropical regions, the passion fruit plant (*Passiflora edulis*) finds excellent growing conditions in Brazil, which is one of the main factors contributing to the country's leading global production. However, challenges such as phytosanitary problems have compromised national yields. Anthracnose, caused by species of the *Colletotrichum* genus, is present in all producing regions. This study aimed to evaluate *in vitro* the effects of *Bacillus subtilis* isolates (R14 and IN937b) and a commercial mixture of *B. subtilis* and *B. licheniformis* on the mycelial growth of *Colletotrichum plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. tropicale*, *C. theobromicola*, and *C. fructicola*. For the pairing test, *Bacillus* isolates were cultured on Nutrient Yeast-Dextrose-Agar (NYDA), and *Colletotrichum* species were cultured on Potato-Dextrose-Agar (PDA). *Colletotrichum* species were inoculated at the center of Petri dishes containing synthetic PDA medium, while the antagonistic bacteria were inoculated individually on both sides of the phytopathogens. In the control treatment, plates were inoculated only with the phytopathogens. The Petri dishes were incubated for seven days at 25 ± 1 °C with a 12-hour photoperiod. To assess differences between treatments, the Mycelial Growth Rate Index (MGRI) and the Mycelial Growth Inhibition Percentage (MGIP) were estimated. For MGRI, treatments with *B. subtilis* and the commercial mixture of *B. subtilis* and *B. licheniformis* showed significant differences compared to the controls for all studied species. The highest MGIP values were observed in treatments with isolates R14 and IN937b. Additionally, an evaluation of the volatile metabolites produced by the *B. subtilis* isolates and the commercial mixture was performed to assess their effect on the mycelial growth of *Colletotrichum* species. After incubation in a potato-dextrose-based liquid medium for seven days, the fermented broths were centrifuged and autoclaved before application to the PDA medium. The evaluation consisted of measuring the diameter of *Colletotrichum spp.* colonies after seven days of incubation. The results revealed differences in MGRI and MGIP, with isolates R14 and IN937b showing greater effectiveness against specific species such as *C. brevisporum* and *C. tropicale*. *B. subtilis* is a promising species for reducing the mycelial growth of *Colletotrichum spp.* associated with anthracnose in passion fruit cultivation.

Keywords: Biocontrol; Biofungicides; *Passiflora*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Porcentagem de inibição micelial das espécies de <i>Colletotrichum</i> utilizando isolados de <i>Bacillus subtilis</i> e a mistura comercial das espécies <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i>	24
Figura 2 - Índice de velocidade do crescimento micelial das espécies de <i>Colletotrichum</i> utilizando isolados de <i>Bacillus subtilis</i> e a mistura comercial das espécies <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i>	25
Figura 3 - Teste de antagonismo utilizando <i>Bacillus</i> spp. no controle de <i>Colletotrichum</i> spp.	28
Figura 4 - Porcentagem de inibição micelial das espécies de <i>Colletotrichum</i> utilizando metabólitos voláteis de <i>Bacillus subtilis</i> e a mistura comercial das espécies <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i>	29
Figura 5 - Índice de velocidade do crescimento micelial das espécies de <i>Colletotrichum</i> utilizando metabólitos voláteis de <i>Bacillus subtilis</i> e a mistura comercial das espécies <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i>	31
Figura 6 - Teste de metabólitos utilizando <i>Bacillus</i> spp. no controle de <i>Colletotrichum</i> spp.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Isolados de <i>Colletotrichum</i> provenientes de maracujazeiros	20
Tabela 2: Índice de velocidade de crescimento micelial e porcentual de inibição micelial in vitro de <i>Colletotrichum</i> spp. no teste de antagonismo de <i>Bacillus</i> spp.	27
Tabela 3: Índice de velocidade de crescimento micelial e porcentual de inibição micelial in vitro de <i>Colletotrichum</i> spp. no teste com uso de metabolitos de <i>Bacillus</i> spp.	33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. Cultura do maracujazeiro.....	13
2.1.1. Aspectos botânicos do maracujazeiro	13
2.1.2. Importância econômica do maracujazeiro.....	15
2.2. Antracnose em maracujazeiro	16
3. MANEJO DA ANTRACNOSE EM MARACUJAZEIRO	17
3.1. Controle biológico	17
3.1.1 <i>Bacillus</i> spp.	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1. Local do experimento, obtenção das espécies de <i>Colletotrichum</i> e <i>Bacillus</i> spp.	20
4.2. Antagonismo in vitro de <i>Bacillus</i> spp. sobre espécies de <i>Colletotrichum</i> por pareamento.....	21
4.3. Ação de metabólitos voláteis de <i>Bacillus</i> spp. sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum</i> spp.	22
5. RESULTADOS.....	23
5.1. Antagonismo in vitro de <i>Bacillus</i> spp. sobre espécies de <i>Colletotrichum</i> por pareamento.....	23
5.2. Ação de metabólitos voláteis de <i>Bacillus</i> spp. sobre o crescimento micelial <i>Colletotrichum</i> spp.	29
6. DISCUSSÃO.....	35
7. CONCLUSÕES	37
REFERÊNCIAS	38

1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro (*Passiflora edulis*), planta de origem tropical, tem sua maior parte da produção destinada ao consumo *in natura* no Brasil, país responsável pela maior produção mundial, sendo a região nordeste responsável por 70% da área plantada com a cultura (LANDAU & SILVA, 2020). No entanto, a produção vem sendo afetada por doenças causadas por fitopatógenos. Dentre elas, a antracnose, que se destaca pelo grande número de espécies de *Colletotrichum* vinculadas a doença, em diferentes partes da planta (folha, flores, frutos, caule, etc.) (CANHÃO et al., 2012; BORDOH et al., 2020; SILVA et al., 2022).

Nos últimos anos observou-se uma busca constante por produtos alternativos que possam ser utilizados em conjunto com os fungicidas químicos, em programas de manejo de doenças para maior eficiência de controle e nesse contexto aumentou o número de pesquisas acerca de métodos de controle mais sustentáveis utilizando microrganismos (HASHIM; TABASSUM; ALLAH, 2019).

As bactérias são os microrganismos mais abundantes presentes na rizosfera, nessa região ocorrem diversas alterações microbianas, aumento da atividade e número de organismos e interações complexas entre as plantas e microrganismos. Espécies do gênero *Bacillus* produzem esporos de resistência que permanecem no solo tolerando altos níveis de estresse, além de produzir metabólitos que estimulam o crescimento das plantas e previnem a infecção (RADHAKRISHNAN et al., 2017).

A espécie *B. subtilis* é uma das mais estudadas por inúmeras possibilidades devido a produção de proteínas e metabolismo que se adequam a uma diversidade de ambientes, como solo e oceanos, podem ser utilizados não só pela medicina, quanto para a produção de biofungicidas na agricultura, enzimas e fermentação de alimentos para a indústria (KOVÁCS, 2019; SU et al., 2020).

Ongena et al. (2008) relatam que o uso de metabólitos produzidos por *B. subtilis* é usado substituindo ou de forma complementar aos biofungicidas, biofertilizantes e fungicidas disponíveis no mercado, sendo de suma importância se fazer a seleção de cepas eficazes para o controle adequado de agentes fitopatogênicos em culturas de importância econômica.

Huang et al. (2020) testaram 108 cepas de *Bacillus* contra a espécie *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da antracnose do choupo (*Populus L.*), árvore de grande importância na China. Foram avaliados a atividade antifúngica *in vitro* pelo ensaio de pareamento, e observaram que uma das cepas (ZSH-1) identificada como *B. subtilis* apresentou o nível mais alto de atividade antifúngica, pois inibiu *C. gloeosporioides* a uma distância de 10 mm.

Segundo os autores, esta cepa pode ser usada como um agente de biocontrole promissor para o *Colletotrichum*.

Também, existem outras espécies do gênero *Bacillus* que possuem grande potencial na atividade antifúngica. No trabalho de Nawaz et al. (2018) foi avaliada a ação de *B. licheniformis* sobre *C. gossypii* e observou-se que *B. licheniformis* (OE-04) não só restringiu o crescimento micelial como produziu enzimas quitinase e protease, sideróforo e possui atividade de solubilização de fosfato. Os estudos de Ravindran et al. (2023) mostraram que *B. licheniformis* reduziu os danos causados por *C. gloeosporioides* por aumentar a proteção das plantas de inhame (*Dioscorea alata* L.).

Com base na importância científica e econômica, o gênero *Colletotrichum* tem sido considerado um dos fitopatógenos mais importantes do mundo (REITOR et al., 2012). Da mesma forma, os resultados satisfatórios obtidos pelo controle biológico em diferentes hospedeiros e patógenos vem chamando a atenção no cenário atual da agricultura, por isso, o objetivo geral deste estudo foi avaliar *in vitro* os efeitos de *Bacillus* spp. sobre *Colletotrichum* spp. associadas à antracnose do maracujazeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cultura do maracujazeiro

As plantas geneticamente conhecidas como maracujazeiro (*Passiflora* spp.) pertencem a família Passifloraceae, composta por 18 gêneros, sendo *Passiflora* o mais expressivo em número de espécies, estimando-se em mais de 500, onde 150 são nativas do Brasil, um dos maiores centros de diversidade (VANDERPLANK, 1996; LOPES, 1991; CROCHEMORE et al., 2003). Segundo sua classificação taxonômica pertence ao reino Plantae, filo Tracheophyta, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Malpighiales, família Passifloraceae, gênero *Passiflora* (MILWARD-DE-AZEVEDO, 2018).

Dentre as espécies deste gênero que produzem frutos comestíveis estão: *Passiflora edulis* Sims (maracujá roxo), *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujá-amarelo), *P. alata* Curtis (maracujá-doce, maracujá-açu), *P. maliformis* Linn. (maracujá cabaça doce, maracujá maçã, maracujá de osso), *P. setacea* (maracujazeiro-sururuca, maracujazeiro-do-sono, maracujazeiro-de-veado), *P. nitida* Kunth (maracujá-suspiro, maracujá-do-cerrado), *P. cincinnata* Mast., (maracujá-do-mato), *P. gibertii* e *P. quadrangularis* L. (maracujá-de-quilo, maracujá-gigante, badea), porém, as espécies *P. edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa* são as mais utilizadas em plantios comerciais devido a qualidade dos frutos para consumo (ARAÚJO, 2009).

2.1.1. Aspectos botânicos do maracujazeiro

O maracujazeiro é uma planta trepadeira herbácea e/ou lenhosa, de crescimento vigoroso e contínuo, perene, de rápido crescimento e frutificação precoce, pode atingir 5 a 10 m de comprimento (RUGGIERO et al., 2000). Apresenta gavinha, apêndices filamentosos, solitárias e axilares que podem ser robustas e tênues. Possuem movimentos chamado de tigmotropismo, e conseguem se enrolarem a suportes para manterem-se fixas (BRUCKNER et al., 2005).

O caule é cilíndrico, angular e raramente quadrangular de onde surgem as gemas vegetativas, das quais, cada uma dará origem a uma folha, uma gavinha e uma flor (MELETTI, 2005). O sistema radicular é superficial do tipo pivotante ou axial, e apresenta maior concentração na profundidade entre 0 e 45cm do solo. As raízes médias e a central são responsáveis pela sustentação da planta, enquanto as pequenas têm a função de absorção de água e nutrientes (KUDO, 2004).

As folhas são bastante variáveis em relação à forma, variando entre espécies e até mesmo dentro a mesma espécie ou planta. As folhas são alternadas e inicialmente são ovaladas e sem lobos. Dentro desse polimorfismo foliar podemos observar as seguintes formas: lobada, digitada, elíptica, ovada, serreada, lisa, glandulosa e subcoriácea (CERVI, 1997). Em sua base, encontram-se brácteas foliáceas que apresentam folhas modificadas e possuem a função de atrair animais polinizadores. Sob estresse, as folhas do maracujazeiro tendem a cair e voltam a brotar no início do ciclo seguinte da cultura (LEITÃO FILHO & ARANHA, 1974).

As flores do maracujazeiro são hermafroditas e vistosas e tem em sua base brácteas foliares. Crescem isoladamente a partir da quinta axila das folhas dos ramos novos. São diclamídeas, apresentando um cálice tubuloso, constituído por cinco sépalas oblongas e esverdeadas e uma corola formada por cinco pétalas oblongas. A corola é seguida por uma corona, que é constituída por cinco séries de filamentos, que é uma característica deste gênero, e, na sua base está localizado o opérculo, que protege a câmara nectarífera (BRUCKNER et al., 2005; OLIVEIRA; FALEIRO; JUNQUEIRA, 2020).

No centro da flor observa-se um tubo andrógino, em cuja base se localiza o ovário. Em sua parte inferior, se inserem cinco filetes terminados por anteras bem desenvolvidas, em cuja parte superior desenvolvem-se os estigmas (BRUCKNER et al., 2005; OLIVEIRA; FALEIRO; JUNQUEIRA, 2020).

O pólen apresenta coloração creme e é pesado, o que desfavorece a polinização pelo vento (BRUCKNER et al., 2005; OLIVEIRA; FALEIRO; JUNQUEIRA, 2020). Além disso, Bruckner et al. (1995) afirmam que a frutificação é inteiramente dependente da polinização cruzada, em virtude da autoincompatibilidade e a eficiência desse processo depende dos agentes polinizadores.

O fruto é classificado como uma baga indeiscente de forma ovoide ou globosa, com variabilidade na cor, tamanho e no peso. A coloração da casca quando maduro varia de acordo com a espécie. A parte externa é formada pelo pericarpo e a interna constitui a polpa. As sementes são de coloração pardo-escura, revestidas pelo arilo, de onde é extraído o suco (MARTINS, 2006).

2.1.2. Importância econômica do maracujazeiro

O cultivo do maracujazeiro é uma atividade de grande expressão econômica no Brasil e pouco explorado nos demais países. De acordo com os últimos dados do IBGE (2023) foram produzidas 711.278 toneladas dos frutos em 45.761 hectares, tendo um rendimento médio de 15.543 Kg/ha da fruta. O maracujazeiro é cultivado em todas as regiões, principalmente, na região Nordeste, que é a maior produtora, responsável por cerca de 70% do total da produção do país (IBGE, 2023). Alagoas está em sétimo lugar na produção nacional da cultura, com cerca de 15.168 toneladas de frutos em 12.076 kg/ha (IBGE, 2023).

No Brasil, durante muitos anos, o maracujá era considerado apenas como uma fruta de pomar doméstico, sendo seu valor comercial descoberto no final da década de 60, quando cafeicultores, após um período de baixa comercialização do café, implantaram pomares de maracujá visando à possibilidade de rápido retorno financeiro oferecidos pela cultura. Assim, o maracujazeiro apresentou-se como uma opção economicamente viável, de grande importância econômica no Brasil, principalmente ao pequeno produtor da agricultura familiar, por ser uma atividade de impacto social, devido à alta rentabilidade do fruto (CAVICHOLI; MELETTI; NARITA, 2018).

A partir da década de 90 ocorreu significativa ampliação da área cultivada do maracujá no País, com crescimento em torno de 75%, em apenas seis anos, o que tornou o maracujá uma cultura de expressão econômica (CRISÓSTOMO, 2009; MELETTI, 2011). Segundo Costa et al. (2005), além da importância econômica da cultura, possui um forte apelo social, onde cada hectare implantado, gera em torno de treze empregos, sendo 4 diretos e 9 indiretos. Deste modo, ajuda a evitar o êxodo rural e garantido ao pequeno produtor a fonte de renda familiar.

O maracujá é uma das poucas frutíferas que possuem todas as partes da planta comercializável. Além de consumido *in natura*, o fruto também é utilizado na fabricação de polpa, geleia e néctar. Suas sementes, folhas e raízes são utilizadas pela indústria farmacêutica como antiespasmódicos, anti-helmínticos e sedativos. As flores são utilizadas pelo mercado da ornamentação (FALEIRO et al., 2005).

2.2. Antracnose em maracujazeiro

Na produção da cultura do maracujazeiro alguns fatores apresentam-se como entrave, dentre eles estão os problemas fitossanitários causados pelos fitopatógenos vírus, bactérias e fungos (SÃO JOSÉ, 2015). No entanto, os fungos são considerados um dos principais agentes associados, principalmente, aqueles que causam a doença antracnose (DEAN et al., 2012).

A antracnose é uma doença disseminada em todas as regiões produtoras de maracujá no Brasil. Possui grande importância por atacar a parte aérea das plantas em qualquer idade, sendo de difícil controle quando as condições climáticas são favoráveis às epidemias (PIO-RIBEIRO & MARIANO, 1997). O gênero *Colletotrichum* é o principal agente causal desta doença, sendo as espécies *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. boninense*, *C. brasiliense*, *C. colombiense*, *C. karstii*, *C. torulosum*, *C. tropicale*, *C. fructicola*, *C. theobromicola*, *C. brevisporum*, *C. plurivorum*, *C. siamense* e *C. constrictum* associadas à antracnose de *Passiflora* spp. em vários países ao redor do mundo, causando grandes prejuízos (TOZZE et al., 2010; DAMM et al., 2012; SILVA et al., 2021; WANG et al., 2021; SILVA et al., 2022, ZHANG et al., 2022).

Os sintomas nas folhas apresentam-se na forma de manchas com aparência aquosa, que evoluem para necrose podendo ocorrer uma intensa queda de folhas, morte dos ponteiros e secamento parcial da planta. Nos frutos jovens, apresentam-se em forma de lesões circulares ou irregulares de coloração pardo-clara que aumentam de tamanho de acordo com a maturação do fruto e torna-se pardo-escuro, de aparência oleosa, deprimido e murcho que afetam a polpa, muitas vezes apresentando-se na forma de podridão mole, provocando queda dos frutos (SÃO JOSÉ et al., 2000; KIMATI et al., 2011).

A sobrevivência do patógeno se dá em restos de cultura e em tecidos afetados na própria planta, fazendo com que a doença seja mais frequente e severa em uma determinada área a partir do segundo ano de cultivo. A ocorrência da doença é favorecida por alta umidade, especialmente com chuvas frequentes, abundantes e temperatura média entre 26° e 28°C. Nestas condições, ocorre intenso desfolhamento, morte dos ponteiros e podridão de frutos. A disseminação do patógeno ocorre através de sementes, respingos de chuva, insetos e implementos agrícolas (KIMATI et al., 2011).

3. MANEJO DA ANTRACNOSE EM MARACUJAZEIRO

O controle de doenças de plantas é um princípio fundamental para minimizar as perdas e garantir o máximo na produtividade (FRANCHINI et al., 2011). Sem controle, doenças de plantas podem ocasionar enormes prejuízos, de consequências sociais e econômica (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 2018).

Conceituações econômicas e biológicas estão intimamente relacionadas, pois a prevenção da doença leva à diminuição dos danos (reduções na quantidade e/ou qualidade da produção) e, eventualmente, das perdas (reduções do retorno financeiro por unidade de área cultivada) (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 2018).

3.1. Controle biológico

O controle biológico consiste na regulação natural do número de seres vivo por seus inimigos naturais. É um fenômeno que ocorre em todas as cadeia e estágios de vida na natureza. Dentre esses inimigos naturais há um número bastante diversificado, que vai desde mamíferos até microrganismos como vírus, bactérias e fungos (PARRA et al., 2002).

Quando o foco é o uso do controle biológico de doenças de plantas, de modo geral, observa-se uma íntima interação do patógeno, hospedeiro e o antagonista como componentes do controle (BETTIOL, 1991). Esse controle ocorre de um organismo por outro organismo, ou ainda o controle de um agente causal de uma doença de planta por um microrganismo antagonista (BETTIOL; SILVA; CASTRO et al., 2019).

Por definição, o controle biológico é um fenômeno dinâmico que sofre influência de fatores climáticos, disponibilidade de alimentos e competição, além da diversidade (VAN DEN BOSCH et al., 1982). A definição mais aceita é a que foi proposta por Cook & Baker (1983) onde definem o controle biológico como a “Redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem”.

O crescimento expressivo do uso de fungicidas no Brasil mostra a importância do controle químico de fitopatógenos, além de estudos que levem a introdução de alternativas de manejo e o controle biológico destaca-se nesse sentido por não haver impacto ambiental (MORANDI et al., 2009).

Bettiol (2011) define os fungicidas biológicos como organismos vivos (fungos, bactérias, protozoários e vírus), animais microscópicos (nematóides) e macrorganismos (predadores e parasitoides, insetos e ácaros) ou produtos naturais derivados desses organismos usados na proteção das plantas.

3.1.1 *Bacillus* spp.

Uma das primeiras bactérias a ser descrita na literatura foi a espécie *Vibrio subtilis* por Ehrenberg em 1835. No entanto, o primeiro relato do gênero *Bacillus* foi em 1872 quando Cohn renomeou o organismo como *Bacillus subtilis* e descreveu esta como bactérias produtoras de estruturas resistentes ao calor e, a partir desse estudo, tal organismo passou a ser a espécie tipo (COHN, 1872; GORDON, 1981). As espécies do gênero *Bacillus* pertencem ao Reino Monera, Filo Firmicutes; Classe Bacilli; Ordem Bacillales e Família Bacillaceae (MAUGHAN & VAN DER AUWER, 2011).

A principal característica dessa família é a produção de endósporos circulares, ovalados ou cilíndricos, estruturas com alto índice de refração quando expostas à luz, formadas no interior da célula bacteriana. Cohn foi o responsável pela descoberta da resistência dos endósporos ao calor, enquanto Koch foi o primeiro a descrever o ciclo de formação do endósporo em uma célula bacteriana e a formação de uma nova célula a partir do endósporo formado (KEYNAN & SANDLER, 1983). A resistência não usual do endósporo fez com que despertasse o interesse de pesquisadores no gênero até os dias atuais, sendo este o gênero bacteriano mais estudado (MELO; NASCIMENTO, SERRA, 2021).

As bactérias do gênero *Bacillus* são gram positivas, possuem crescimento aeróbio, mas também, pode ser anaeróbio facultativo. Possui mobilidade flagelar e tamanho que varia entre 0,5 a 10 µm, e crescimento ótimo em pH neutro e temperaturas entre 30 e 45 °C. As bactérias desse gênero além de ser amplamente utilizada na promoção do crescimento vegetal também são bastante estudadas para controle de fitopatógenos devido a sua diversidade metabólica (TEJERA-HERNÁNDEZ et al., 2011; VILLARREAL-DELGADO et al., 2018).

Diversos trabalhos mostram que espécies do gênero *Bacillus* podem ser utilizadas como biocontrole de doenças de plantas e aumento da produtividade de diversas culturas de importância econômica (NGUGI et al., 2005; YAO et al., 2006). O antagonismo deste gênero pode ser visualizado de forma indireta e direta. As espécies do gênero *Bacillus* aplicadas como biocontrole tem ação indireta quando gera resistência sistêmica induzida, que pode ser ativada por patógenos e organismos não patogênicos, fortalecendo as defesas das plantas (LANNA FILHO et al., 2010; PASCHOLATI, 2011). De forma direta este antagonismo é observado através de antibiose, competição por espaço e nutrientes, além da produção de compostos orgânicos voláteis nocivos às espécies que se quer controlar (LEELASUPHAKUL, 2008).

Diversas espécies do gênero *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens* e *B. licheniformis*) são amplamente estudadas acerca de doenças de plantas de importância econômica (RAAIJMAKERS et al., 2010). Galindo et al., (2015) desenvolveu um biofungicida

a base de *B. subtilis*, que tem grande eficácia naturalmente sobre diversos fitopatógenos. Este biofungicida tem ação preventiva contra diversos gêneros de fitopatógenos como: *Colletotrichum*, *Erysiphe*, *Leveillula*, *Botrytis*, *Sphaerotheca macularis*, em uma ampla gama de hospedeiros (GALINDO et al., 2015).

Bacillus subtilis é encontrada em diversos locais como solo e rizosfera. As colônias possuem grande variabilidade na coloração, indo do esbranquiçado ao preto. Apresenta-se móvel formando esporos centrais, com formato cilíndrico. A bactéria desperta interesse devido a produção de metabólitos secundários utilizáveis, tanto para uso agrícola quanto medicinal (MONNERAT et al., 2020).

Venkataramanamma et al., (2022) isolaram dez cepas de *Bacillus* e, em seus ensaios *in vitro*, observaram diferentes respostas comportamentais desses isolados frente a *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. Dois dos isolados conseguiram inibir significativamente o crescimento do patógeno. Foi possível observar alteração na cor do micélio em alguns dos testes de antagonismo e acredita-se que foi devido aos metabólitos fungistáticos secretados pelos isolados de *Bacillus*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local do experimento, obtenção das espécies de *Colletotrichum* e *Bacillus* spp.

O trabalho foi realizado no *Campus* de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas - Rio Largo/AL. Os experimentos foram conduzidos na clínica fitossanitária.

Isolados representativos de cinco espécies de *Colletotrichum* provenientes de maracujazeiro em Alagoas foram obtidos da Coleção de Fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas - COUFAL. Esses isolados foram caracterizados por inferência Bayseana baseados em análises multi-locus das sequências parciais dos genes gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH), quitina sintetase (*CHS-1*), β -tubulina (TUB2) e região do espaço interno transcrito (ITS) por Silva et al., 2022 (Tabela 1).

Tabela 1: Isolados de *Colletotrichum* provenientes de maracujazeiros.

ESPÉCIES	CÓDIGOS	Números de acesso do GenBank			
		<i>GAPDH</i>	<i>ITS</i>	<i>TUB2</i>	<i>CHS-1</i>
<i>C. brevisporum</i>	*COUFAL0271	MT299329	MT334686	MT310545	MT314425
<i>C. plurivorum</i>	COUFAL0275	MT299333	MT334689	MT310548	-
<i>C. fructicola</i>	COUFAL0279	MT299337	MT334692	MT310551	-
<i>C. theobromicola</i>	COUFAL0280	MT299338	MT334693	MT310552	-
<i>C. tropicale</i>	COUFAL0282	MT299340	MT334695	MT310554	-

* COUFAL: Coleção de fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas.

Fonte: Dados da pesquisa

Os antagonistas utilizados nos testes foram os isolados de *Bacillus subtilis* (R14 e IN437b), provenientes da coleção de culturas de fitobactérias do laboratório de fitobacteriologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, e o produto comercial TOPBIO NEMA, composto por *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*.

4.2. Antagonismo in vitro de *Bacillus* spp. sobre espécies de *Colletotrichum* por pareamento.

No teste de pareamento foram utilizados isolados de *Bacillus* cultivados em meio Ágar nutritivo-Dextrose-Extrato de levedura (NYDA), por 48h a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, e espécies de *Colletotrichum* cultivadas em meio de Batata-Dextrose-ágar (BDA), a 25°C , por 7 dias. Após esse período, discos de 5 mm de *Colletotrichum* spp. foram inoculados no centro de placas de Petri contendo meio BDA sintético, enquanto as bactérias antagonistas foram inoculadas individualmente em ambos os lados dos fitopatógenos, com 1,6 cm de distância das bordas nas placas de Petri. Para testemunha, as placas foram inoculadas apenas com os fitopatógenos e, mantidas em câmara de incubação (B.O.D.), à 25°C , com fotoperíodo de 12 h, por 7 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial, com cinco repetições, constituídas por uma placa de Petri, sendo cinco espécies de *Colletotrichum* e 2 isolados de *Bacillus subtilis* (R14 e IN437b) mais o produto comercial TOPBIO NEMA, composto por *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*.

As avaliações foram obtidas a partir da medição diária, do diâmetro das colônias das *Colletotrichum* spp., 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.

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

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.

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

4.3. Ação de metabólitos voláteis de *Bacillus* spp. sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp.

Para testar a produção e termoestabilidade de metabólitos produzidos por isolados de *B. subtilis* (R14 e IN437b) e o produto comercial TOPBIO NEMA, composto por *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*, colônias de bactérias foram transferidas para Erlenmeyers de 250 ml, contendo 100 ml de meio líquido à base de batata-dextrose.

Após a incubação em condições ambiente por sete dias, sob agitação de 120 RPM em agitador mecânico, no escuro e, posteriormente, centrifugação por 30 minutos a 2000 RPM, amostras de 10 ml de cada caldo fermentado foram transferidas para Erlenmeyers com capacidade para 250 ml, contendo 90 ml de meio de cultura BDA e esterilizados em autoclave por 20 min, a 120 °C e 1 atm de pressão. Após homogeneização do meio de cultura mais suspensão, procedeu-se a deposição de 20 ml em placas de Petri. Por fim, transferiu-se para o centro de cada placa um disco de 5 mm de diâmetro, obtido do bordo de colônias das espécies de *Colletotrichum*, com sete dias de idade.

As testemunhas foram constituídas de placas contendo os fitopatógenos nos meios de cultura, sem a presença de metabólitos. Após 7 dias mantidas em câmara de incubação (B.O.D.) à $28 \pm 2^\circ\text{C}$ com fotoperíodo de 12 h, efetuou-se a medição do diâmetro das colônias de *Colletotrichum* spp.

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, em que cada placa de Petri constituiu em uma unidade experimental. 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.

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

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.

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

5. RESULTADOS

5.1. Antagonismo in vitro de *Bacillus* spp. sobre espécies de *Colletotrichum* por pareamento.

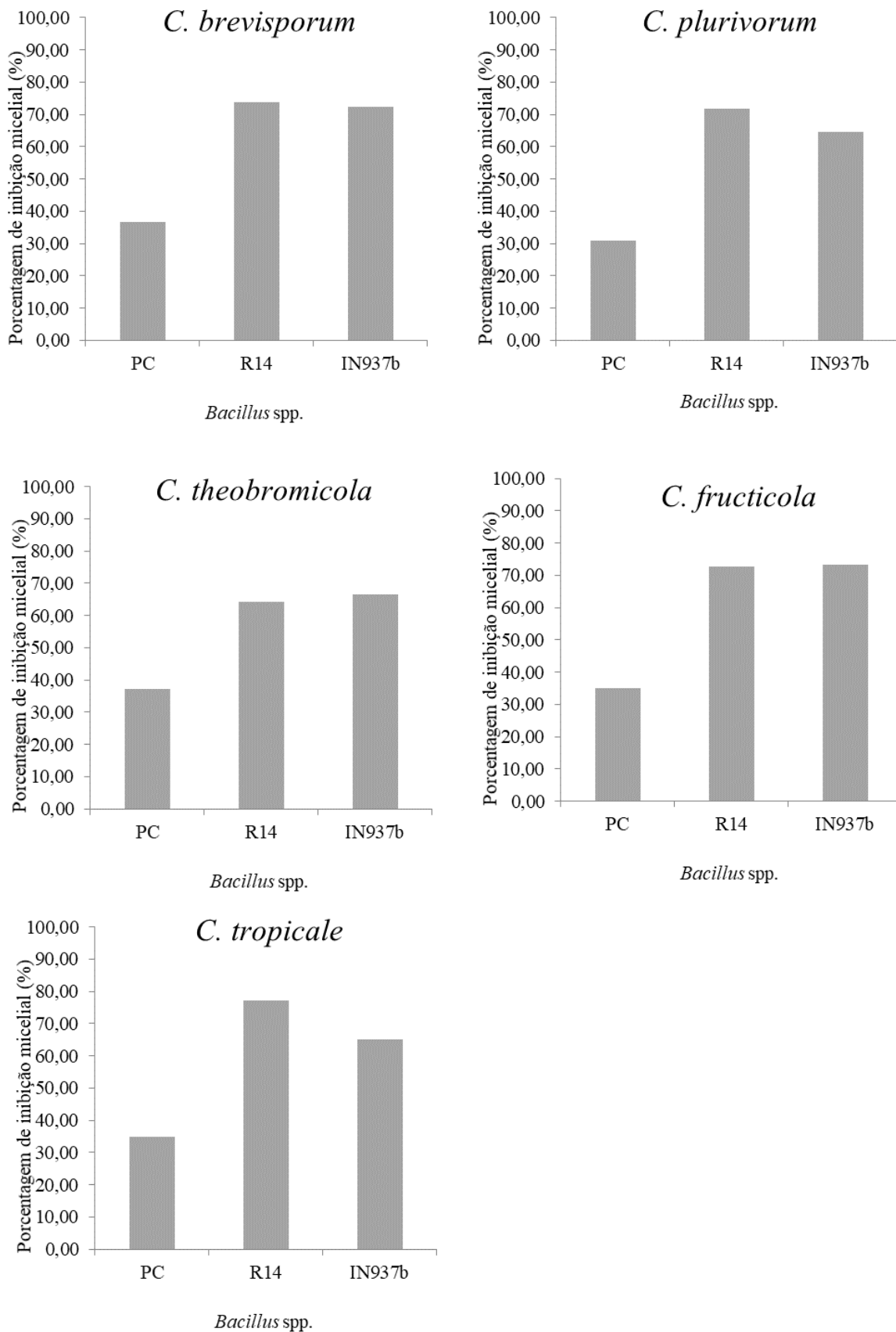
As cinco espécies de *Colletotrichum* apresentaram diferentes porcentagens no crescimento micelial (PIC), quando submetidas aos isolados de *Bacillus*. Observa-se que o produto comercial composto pelas espécies *B.s subtilis* + *Bacillus licheniformis* apresentou as seguintes porcentagens de inibição micelial, para *C. plurivorum* (30,99 %), *C. tropicale* (34,74 %), *C. theobromicola* (37,09 %), *C. brevisporum* (36,79 %) e *C. fructicola* (35,03 %), mostrando-se menos eficiente quando comparado com os antagonistas R14 e IN937b (Figura 1; Figura 3; Tabela 2).

Quando avaliamos a porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* em relação ao isolado R14, pode-se observar que houve um comportamento semelhante entre as espécies *C. tropicale*, *C. fructicola*, *C. plurivorum* e *C. brevisporum*, apresentando PIC acima de 70 %, sendo a espécie *C. tropicale* (77,06 %) a mais sensível e, em contrapartida, *C. theobromicola* (64,18 %) a menos sensível, diferindo estatisticamente das demais (Figura 1; Figura 3; Tabela 2).

O antagonismo das espécies de *Colletotrichum* usando o isolado IN937b foi possível observar que *C. brevisporum* e *C. fructicola* foram as mais sensíveis, com 72,32 e 73,16 %, respectivamente. Para as demais espécies a porcentagem de inibição ficou abaixo de 67 % (Figura 1; Figura 3; Tabela 2).

De forma geral, o tratamento com o isolado R14 foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial para todas as espécies de *Colletotrichum*. Vale ressaltar os antagonistas R14 e IN937b obtiveram resultados semelhantes e não diferiram significativamente entre si, exceto *C. theobromicola*.

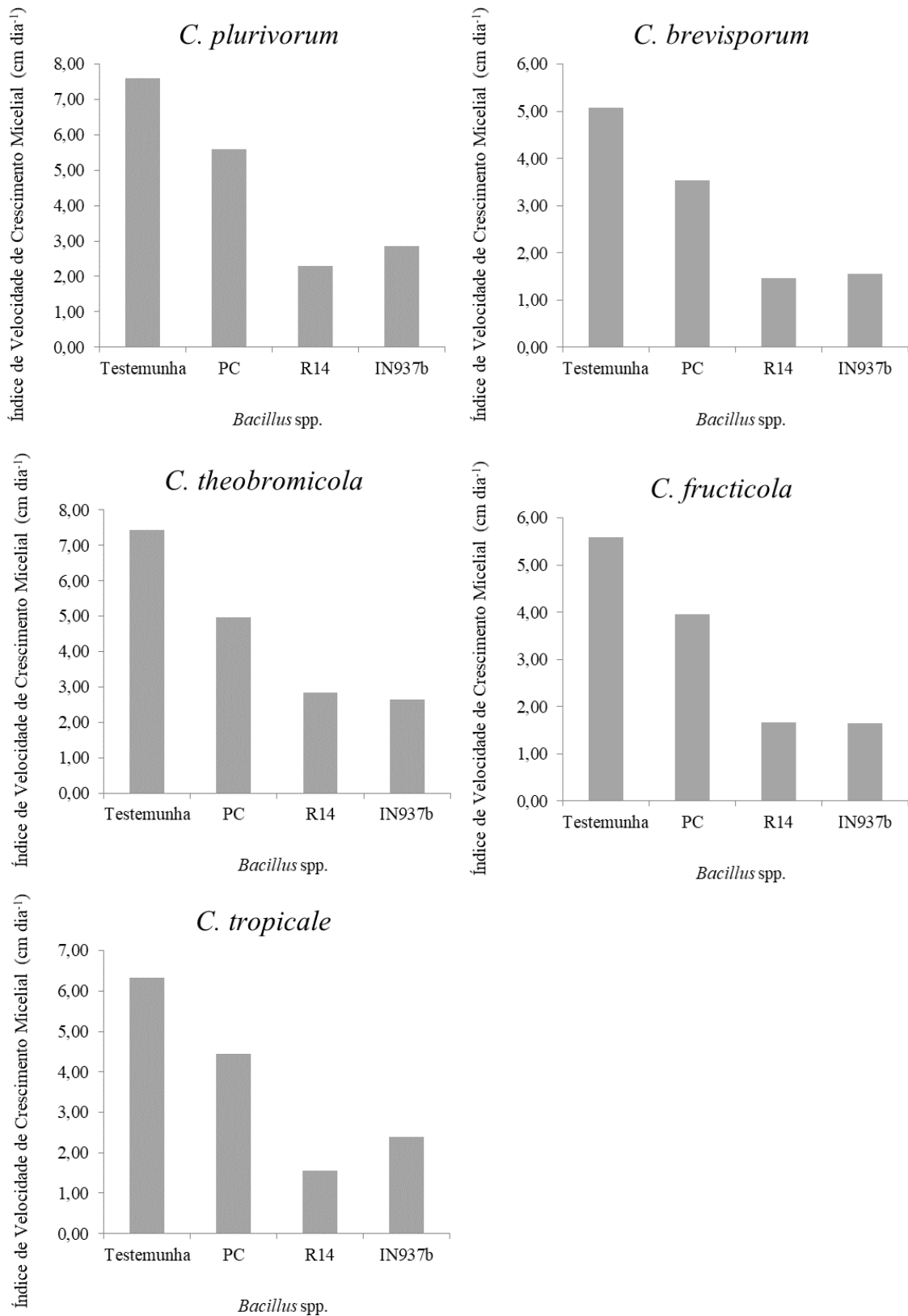
Figura 1 - Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando isolados de *Bacillus subtilis* e a mistura comercial das espécies *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*.



Fonte: Dados da pesquisa.

A mistura de *B. subtilis* e *B. licheniformis* (PC) resultou nos maiores índices de velocidade de crescimento miceliais em todas as espécies testadas, sendo *C. plurivorum* (5,59 cm) a espécie menos sensível e *C. brevisporum* (3,54 cm) a espécie mais sensível. Este resultado foi observado também no tratamento com o isolado IN937b, onde as espécies *C. plurivorum* (2,86 cm) e *C. brevisporum* (1,55 cm) foram as mais e menos sensíveis, respectivamente. O isolado R14 obteve os menores IVCm para todas as espécies, exceto *C. theobromicola*, que apresentou 2,83 cm de crescimento micelial, sendo esta a menos sensível. A maior redução do crescimento micelial de *C. theobromicola* (2,64 cm) foi observada na presença do isolado IN937b. Os tratamentos com os isolados R14 e IN937b não diferiram estatisticamente entre si (Figura 2; Figura 3; Tabela 2).

Figura 2 - Índice de velocidade do crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando isolados de *Bacillus subtilis* e a mistura comercial das espécies *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*.



Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 2: Índice de velocidade de crescimento micelial e porcentual de inibição micelial in vitro de *Colletotrichum* spp. no teste de antagonismo de *Bacillus* spp.

TESTE DE PAREAMENTO							
ESPÉCIES	IVCM				PIC		
	TESTEMUNHA	R14	PC	IN937b	R14	PC	IN937b
<i>C. tropicale</i>	6,33 bA	1,56 bC	4,44 bcB	2,38 abC	77,06 aA	34,74 aC	65,00 aB
<i>C. theobromicola</i>	7,43 aA	2,83 aC	4,97 abB	2,64 aC	64,18 bA	37,09 aB	66,61 aA
<i>C. brevisporum</i>	5,08 cA	1,46 bC	3,54 cB	1,55 bC	73,93 aA	36,79 aB	72,32 aA
<i>C. fructicola</i>	5,58 bcA	1,66 bC	3,96 cB	1,64 bC	72,75 abA	35,03 aB	73,16 aA
<i>C. plurivorum</i>	7,60 aA	2,28 abC	5,59 aB	2,86 aC	71,85 abA	30,99 aB	64,66 aA
CV%		14,45				9,24	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 1%.

CV= Coeficiente de variação.

PC= Produto comercial.

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 3 - Teste de antagonismo utilizando *Bacillus* spp. no controle de *Colletotrichum* spp.



Fonte: Dados da pesquisa.

5.2. Ação de metabólitos voláteis de *Bacillus* spp. sobre o crescimento micelial *Colletotrichum* spp.

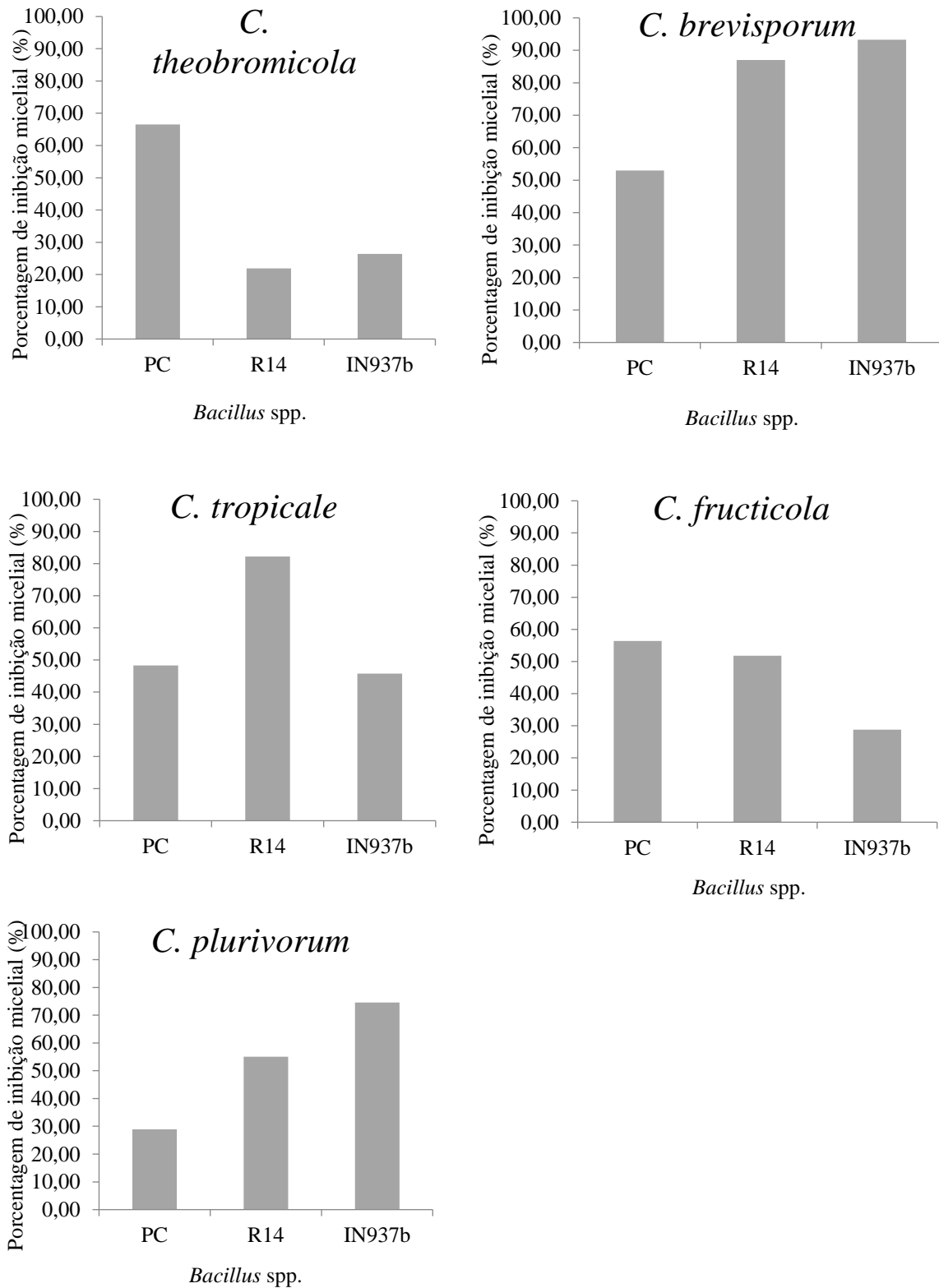
As cinco espécies de *Colletotrichum* apresentaram diferentes porcentagens no crescimento micelial (PIC), quando submetidas aos isolados de *Bacillus*. Observa-se que o produto comercial composto pelas espécies *B. subtilis* + *Bacillus licheniformis* apresentou as seguintes porcentagens de inibição micelial, para *C. plurivorum* (28,94 %), *C. tropicale* (48,32 %), *C. theobromicola* (66,52 %), *C. brevisporum* (53,01 %) e *C. fructicola* (56,35%) (Figura 4; Figura 6; Tabela 3).

A porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC) nas espécies de *Colletotrichum* usando o isolado R14 foi possível observar que *C. tropicale* (82,20 %) e *C. brevisporum* (86,99 %) apresentaram percentuais de inibição semelhantes e foram mais sensíveis, seguidos por *C. plurivorum* (55,06 %) e *C. fructicola* (51,79 %). A espécie *C. theobromicola* apresentou a menor sensibilidade ao isolado R14, com 21,89 %, diferindo estatisticamente das demais (Figura 4; Figura 6; Tabela 3).

Quando avaliamos a porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* em relação ao isolado IN937b, pode-se observar que houve um comportamento semelhante entre as espécies *C. theobromicola* e *C. fructicola*, apresentando PIC abaixo de 30 %, sendo a espécie *C. brevisporum* (93,29 %) a mais sensível e, seguidos de *C. plurivorum* (74,59 %) e *C. tropicale* (45,76 %).

De forma geral, o tratamento com o isolado R14 foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial, com exceção do isolado *C. theobromicola*, seguido do isolado IN937b. Vale ressaltar que os antagonistas R14 e IN937b obtiveram resultados acima de 85% de inibição de crescimento micelial no isolado *C. brevisporum* e não diferiram significativamente entre si.

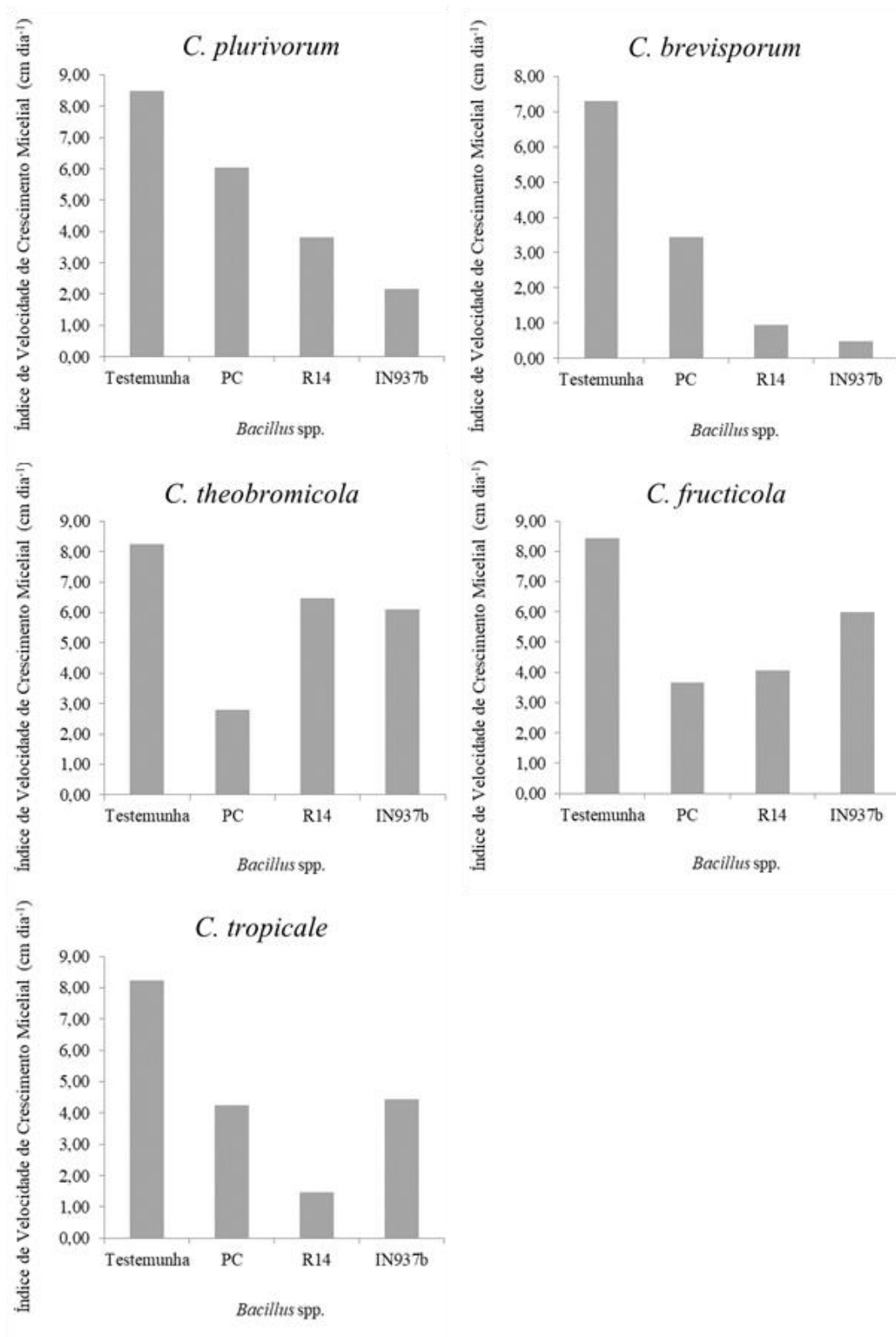
Figura 4 - Porcentagem de inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando metabolitos voláteis de *Bacillus subtilis* e a mistura comercial das espécies *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*.



Fonte: Dados da pesquisa.

No geral, a mistura comercial de *B. subtilis* e *B. licheniformis* (PC) resultou nos maiores índices de velocidade de crescimento micelial para todas as espécies de *Colletotrichum*, indicando menor eficácia na inibição do crescimento micelial. Especificamente, *C. plurivorum* apresentou um IVCM de 6,04 cm, sendo a espécie menos sensível, enquanto *C. theobromicola* apresentou 2,78 cm, demonstrando maior sensibilidade. Em contraste, o tratamento com o isolado IN937b mostrou que *C. theobromicola* foi a menos sensível, com IVCM de 6,10 cm e *C. brevisporum* a mais sensível, com 0,49 cm. O isolado R14, em média, proporcionou os menores IVCMs dentre as espécies testadas. No entanto, *C. theobromicola* apresentou um IVCM de 6,48 cm, indicando menor sensibilidade a este tratamento. A maior redução no crescimento micelial de *C. theobromicola* (2,78 cm) foi observada com a mistura PC.

Figura 5 - Índice de velocidade do crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* utilizando metabólitos voláteis de *Bacillus subtilis* e a mistura comercial das espécies *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis*.



Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 3: Índice de velocidade de crescimento micelial e porcentual de inibição micelial in vitro de *Colletotrichum* spp. no teste com uso de metabólitos de *Bacillus* spp.

ESPÉCIES	TESTE DE METABÓLITOS						
	IVCM				PIC		
	TESTEMUNHA	PC	IN937b	R14	PC	IN937b	R14
<i>C. plurivorum</i>	8,50 aA	6,04 aB	2,16 cD	3,82 bC	28,94 dC	74,59 bA	55,06 bB
<i>C. fruticola</i>	8,44 aA	3,67 bcC	5,99 aB	4,05 bC	56,35 bA	28,75 dB	51,79 bA
<i>C. tropicale</i>	8,22 aA	4,24 bB	4,45 bB	1,46 cC	48,32 cB	45,76 cB	82,20 aA
<i>C. brevisporum</i>	7,30 bA	3,43 cB	0,49 dC	0,95 cC	53,01 bcC	93,29 aA	86,99 aB
<i>C. theobromicola</i>	8,25 aA	2,78 dC	6,10 aB	6,48 aB	66,52 aA	26,42 dB	21,89 cB
CV%		6,92				7,52	

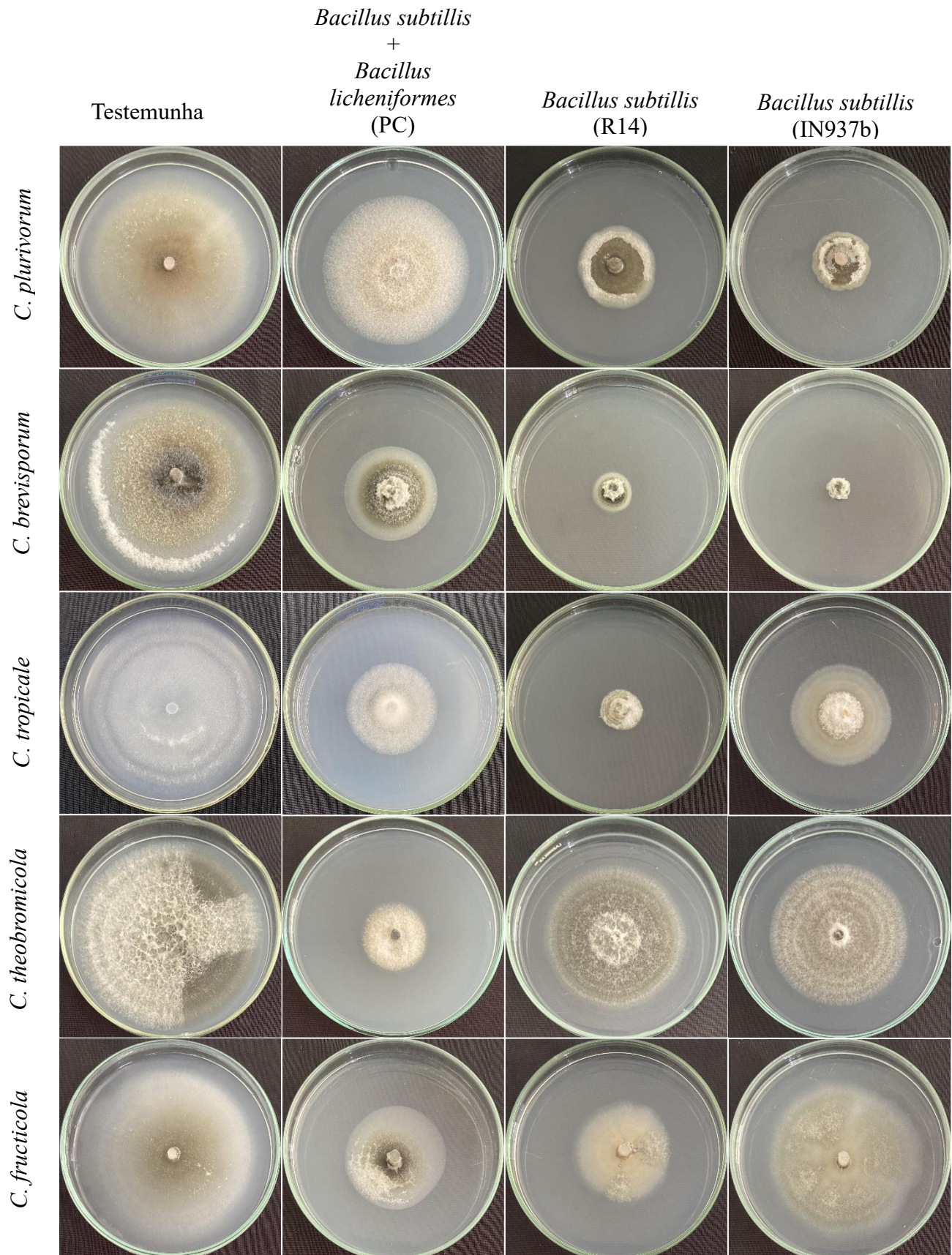
Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 1%.

CV= Coeficiente de variação.

PC= Produto comercial

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 6 - Teste de metabólitos utilizando *Bacillus* spp. no controle de *Colletotrichum* spp.



Fonte: Dados da pesquisa.

6. DISCUSSÃO

A diversidade de microrganismos, bem como suas relações antagônicas, surge como ferramentas importantes para o controle biológico aplicado. As bactérias vem sendo alvo de diversas pesquisas para elucidação de diversas interações entre antagonista e patógeno e os mecanismos de ação presentes (LANNA FILHO et al., 2010; KOVÁCS et al., 2019).

Vários estudos comprovam o uso de microrganismos com características antagônicas como sendo uma estratégia viável para diminuir os danos causados pela doença antracnose (TORTORA et al., 2012; MOCHIZUKI et al., 2012; THANH et al., 2023). Dentre esses microrganismos, destacam-se as bactérias do gênero *Bacillus*, considerado o segundo grupo de microrganismos mais estudado no mundo (LANNA FILHO et al., 2010; KOVÁCS et al., 2019).

A espécie *B. subtilis* vem sendo amplamente estudada por ser considerada uma bactéria modelo e formadora de biofilmes, característica ligada a novos usos industriais, bem como a processos probióticos e de biocontrole. Este mecanismo subjacente dentre a interações planta-microrganismo e a forma como contribuem para prevenir a colonização de fitopatógenos vem sendo sendo explorados (BLAKE et al., 2021).

Neste estudo, procuramos determinar se os isolados de *Bacillus subtilis* (R14 e IN937b) e a mistura comercial composta pelas espécies *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* têm a capacidade de inibir *in vitro* espécies de *Colletotrichum*, que causam a doença antracnose em maracujazeiro (SILVA et al., 2022), utilizando a técnica de pareamento e ação dos metabólitos secundários.

Os resultados da atividade antagônica mostraram que o crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum* foram inibidos pelos isolados de *Bacillus*. No entanto, os melhores resultados para essa inibição foram observados quando utilizamos os isolados de *Bacillus subtilis* (R14 e IN937b), apresentando PIC com variação de 31 à 77%. Thanh et al. (2023) avaliaram a eficácia de *B. subtilis* no controle da antracnose da pimenta (*Capsicum annuum* L.), utilizando a técnica de cultivo pareada, e observaram uma média de 55% na inibição de *Colletotrichum* spp.

O trabalho de Shastri et al. (2020) mostra que os estudos *in vitro* de antagonismo a *Colletotrichum falcatum*, agente causal da podridão vermelha da cana-de-açúcar, obteve inibição de 76% quando utilizaram a bactéria endofítica *B. subtilis*, constatando alterações, morte e confusão das hifas do patógeno. A desorientação era causada pela presença de várias enzimas como quitinase, β -1,3 glucanase, protease, pectinase e amilase, substâncias inibidoras, como sideróforo, amônia, cianeto de hidrogênio (HCN) e outros voláteis, bem como metabólitos difusíveis. Além disso, alguns estudos indicam que o efeito inibitório sobre o

micélio também pode inibir a germinação de conídios ou resultar na destruição da membrana (LIU et al., 2014; HAN et al., 2015).

A mistura formulada das espécies *B. subtilis* e *B. licheniformis* apresentou as menores porcentagens de inibição do crescimento micelial para todas as espécies testadas. O uso de mistura formulada e dessas espécies separadamente foi investigada por Nunes (2020), na promoção de crescimento e no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) raça 3 do tomateiro em ambiente controlado, observaram que os isolados de *B. subtilis* e de *B. licheniformis* foram detectados nas plantas tratada e que tanto os isolados de *B. subtilis* e *B. licheniformis*, em mistura ou separadamente, foram eficientes na promoção de crescimento das plantas de tomate. No entanto, a mistura comercial das espécies de *Bacillus* não controlou a murcha de *Fusarium* em tomateiro na concentração de 1×10^{10} UFC mL⁻¹. Em contrapartida, *B. licheniformis* de forma isolada reduziu a severidade da murcha causada pelo patógeno. Segundo Muras et al. (2021) a espécie *B. licheniformis* possui potencial na agricultura, uso medicinal e industrial. Nunes (2020) afirma que o produto contendo a mistura de *B. subtilis* e *B. licheniformis* era registrada como nematicida microbiológico, bem como no presente estudo.

Os resultados da ação dos metabólitos voláteis de *Bacillus* mostraram inibição no crescimento micelial de todas as espécies do patógeno. No entanto, nenhum dos três tratamentos se destacou em todas as espécies, apresentando PIC com variação de 21,89 à 93,29%. Resultado semelhante foi observado por AREAL (2019), onde verificou que compostos orgânicos voláteis emitidos por *Bacillus* foram eficazes na inibição de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e *Colletotrichum* spp., destacando que os metabólitos atuaram diretamente sobre o crescimento micelial e na estrutura das hifas dos patógenos. Também, FASOLIN (2017) avaliou a ação de *Bacillus* spp. na produção de metabólitos voláteis com propriedades antimicrobianas e observou significativa inibição do crescimento de *Colletotrichum lindemuthianum*. Neste estudo, os metabólitos também apresentaram estabilidade após processos de autoclavagem, indicando a resistência térmica dos compostos bioativos e reforçando seu potencial no manejo de fitopatógenos. Esses resultados sugerem que a eficácia dos tratamentos com *Bacillus* varia conforme a espécie de *Colletotrichum*, destacando a importância de selecionar isolados específicos para o controle biológico eficaz.

7. CONCLUSÕES

Os isolados R14 e IN937b (*Bacillus subtilis*) foram os mais eficientes no controle de *C. plurivorum*, *C. brevisporum*, *C. tropicale*, *C. theobromicola* e *C. fructicola*.

Os isolados R14 e IN937b (*Bacillus subtilis*) foram os mais eficientes no controle das espécies *C. plurivorum*, *C. brevisporum* e *C. tropicale* quando submetidos a ação dos metabólitos voláteis.

Estudos futuros devem ser realizados para avaliar a eficácia dos isolados em condições de casa de vegetação e de campo e explorar os mecanismos de ação dos metabólitos voláteis.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F. P. Caracterização da variabilidade morfoagronômica de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) no semi-árido brasileiro. 2009. 94f. **Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botocatu, 2009.**
- AREAL, M. V. Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) emitidos por *Bacillus* spp. no controle biológico de fitopatógenos. 2019. *Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.*
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Controle de doenças. *In: AMORIM, L.; RESENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. (5. ed.). São Paulo: Agronômica Ceres, 2018, 561p.*
- BETTIOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, v. 22, n. 6, p. 280-284, 2011.
- BETTIOL, W. Componentes do controle biológico de doenças de plantas. *In: KRETZCHMAR, A.A.; COSTA, A.S.; AUER, C.G. et al. Controle biológico de doenças de plantas. (ed) Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991, 388p.*
- BORDOH, A. G.; SILVA, L. M.; PEREIRA, D. R. Análise da incidência e do controle da antracnose em maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, v. 35, n. 2, p. 123–134, 2020.
- BRUCKNER, C. H.; CASALI, V. W. D.; MORAES, C. F. de; REGAZZI, A. J.; SILVA, E. A. M. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). **Acta Horticulturae**, v. 370, p. 45-57, 1995.
- BRUCKNER, C. H.; SUASSUNA, T.M.F.; RÊGO, M.M.; NUNES, E.S. Autoincompatibilidade do maracujá - implicações no melhoramento genético. *In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá germoplasma e melhoramento genético. (ed.). Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005, p.315-338.*
- CANHÃO, J. F.; SOUZA, R. P.; MORAIS, E. L. Caracterização morfo-molecular de isolados de *Colletotrichum* associados à antracnose no maracujazeiro. **Fitopatologia Tropical**, v. 30, n. 1, p. 45–56, 2012.
- CAVICHIOLO, J.C.; MELETTI, L.M.M.; NARITA, N. (2016). **aspectos da cultura do maracujazeiro no Brasil.** Disponível em: <https://www.todafruta.com.br/wp-content/uploads/2018/05/MARACUJA.pdf>. Acesso: 12/2023.
- CERVI, A.C. Passifloraceae do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., Subgênero *Passiflora*. **Fontqueria**, v.5, p. 1-92, 1997.
- COHN, F. Untersuchungen Über Bakterien. **Beitrag zur Biologie Pflanz**, v.1, p.127-1224, 1872.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: The American phytopathological society, 1983, 539 p.

CRISÓSTOMO, L. A; NAUMOV, A. Adubando para alta produtividade e qualidade: fruteiras tropicais do Brasil. **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 238, 2009.

CROCHEMORE, M.L.; MOLINARI, H.B.; STENZEL, N.M.C. Caracterização agromorfológica do maracujazeiro (*Passiflora* spp.) **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p.5-10, 2003.

DEAN, R.; VAN KAN, J. A. L.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G. D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.

FASOLIN, J. P. Influência da temperatura na produção de compostos antimicrobianos e no controle da antracnose e do crestamento bacteriano do feijão por bactérias biocontroladora. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

FRANCHINI, J.C.; COSTA, J.M.; DEBIASI, H. Controle de doenças de plantas é um princípio fundamental para minimizar as perdas e garantir o máximo na produtividade. **Informações Agrônomicas**, n. 134, 2011.

GALINDO, E.; SERRANO-CARREÓN, L.; GUTIÉRREZ, C.R.; BALDERAS-RUIZ, K.A.; MUÑOZ-CELAYA, A.L.; MEZO-VILLALOBOS, M.; ARROYO-COLÍN, J. Desarrollo histórico e os retos tecnológicos e legais para comercializar Fungifree AB®, o primer biofungicida 100% mexicano. **TIP Revista Especializada em Ciências Químico-Biológicas**, v.18, p.52-60, 2015.

GORDON, R. E. One hundred and seven years of the genus *Bacillus*. In: BERKELEY, R. C. W., GOODFELLOW, M. **The Aerobic Endospore-forming Bacteria: Classification and Identification**. (ed.). London & New York: Academic Press, 1981, p. 1–15.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ALLAH, E. F. A. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291–1297, 2019.

HUANG, X.; DING, J.; XU, X.; et al. Screening of *Bacillus* strains for antagonistic activity against *Colletotrichum gloeosporioides* causing poplar anthracnose. **Biological Control**, v. 142, p. 104-110, 2020.

IBGE (2023). Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producaoagropecuaria/maracuja/al>. Acesso em: 10/2024.

JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOTO, J. R.; BRANCHER, A.; JUNQUEIRA, K. P.; FIALHO, J. F. Melhoramento genético do maracujá doce. In: MANICA, I.; JOSÉ, A. R. S.; BRUCKNER, C. H.; HOFFMANN, M. Maracujá-doce: Tecnologia de produção, pós-colheita e Mercado. (Eds.). **Porto Alegre: Cinco continentes**, 2005, p. 39–46.

KEYNAN, A.; SANDLER, N. **Spore research in historical perspective**, 1983.

KIMATI, H. Controle químico. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos**. (ed.). São Paulo: Agronômica ceres, 2011.

KOVÁCS, Á. T. *Bacillus subtilis*. **Trends in Microbiology**, v. 27, n. 8, p. 724–725, 2019.

KUDO, A. S. Reação de genótipos de maracujazeiro azedo a *Septoria passiflorae* e a *Cladosporium herbarum*. 2004. 97 f. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília**, Brasília, DF, 1995.

LANDAU, F.; SILVA, R. Evolução da Produção do Maracujá. 2020. **Relatório Técnico, xxv. Brasília: Embrapa, 2020. Disponível em: www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1122688/1/Cap32EvolucaoDaProducaoMaracuja.pdf**. Acesso: 10 out. 2023.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, n.2, 2010.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n.1, p. 113-121, 2008.

LEITÃO FILHO, H. F.; ARANHA, C. Botânica do maracujazeiro. *In*: **SIMPÓSIO DA CULTURA DO MARACUJÁ**. Campinas: SBF, 1974, 13p.

LOPES, S.C. Citogenética do maracujá, *Passiflora* spp. *In*: SÃO JOSÉ, A.R.; FERREIRA, F.R.; VAZ, R.L. A cultura do maracujá no Brasil. (Eds.). **Jaboticabal: FUNEP**, 1991, p. 201-209.

MARTINS, I. Reação de progênies de maracujazeiro-amarelo ao *Colletotrichum gloesporioides* e biocontrole da antracnose com *Trichoderma* spp. 2006. P. 137. **Dissertação (Mestrado na Faculdade De Agronomia e Medicina Veterinária) - Universidade de Brasília**, Brasília, 2006.

MAUGHAN, H.; VAN DER AUWERA, G. A taxonomia de *Bacillus* na era genômica considera os fenótipos essenciais, embora muitas vezes enganosos. **Infecção, Genética e Evolução**, v. 11, p.789-797, 2011.

MELETTI, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, Volume Especial, p.083-091,2011.

MELETTI, L. M. M.; SOARES-SCOTT, M. D.; BERNACCI, L. C.; PASSOS, I. R. S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. *In*: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. Maracujá, germoplasma e melhoramento genético. (Ed.). **Planaltina: Embrapa Cerrados**, 2005, p. 55-78.

MELO, T.A.; NASCIMENTO, I.T.V.S.; SERRA, I.M.R.S. The *Bacillus* genus applied to the biological control of plant diseases. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 9, 2021

MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A. Histórico de *passiflora* L. com enfoque no subgênero decaloba (dc.) Rchb. (passifloraceae *sensu stricto*). **Diversidade e Geponto**, v.2, n.1, p. 36-45, 2018.

MONNERAT, R.; MONTALVÃO, S.C.L.; MARTINS, E.S.; QUEIROZ, P.R.M.; SILVA, E.Y.; GARCIA, A.R.M.; CASTRO, M.T.; ROCHA, G.T.; FERREIRA, A.D.C.L.; GOMESS, A.C.M.M. **Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020. P. 46.

MORANDI, M.A.B.; JÚNIOR, T.J.P.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. Controle biológico de fungos fitopatogênicos. *In*: VENZON, M.; JÚNIOR, T.J.P.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. **Controle biológico de pragas, doenças e plantas invasoras**. (ed.). Epamig, 2009, 124p.

NGUGI, H. K.; DEDEJ, S.; DELAPLANE, K. S.; SAVELLE, A. T.; SCHERM, H. Effect of flower-applied Serenade biofungicide (*Bacillus subtilis*) on pollination-related variables in rabbiteye blueberry. **Biological Control**, v.33, n.1, p.32-38, 2005.

OLIVEIRA, J.S.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V. Diversidade genética inter e intraespecífica de acessos do banco de Germoplasma de *Passiflora* 'Flor da Paixão'. *In*: FALEIRO, F.G.; OLIVEIRA, J.S.; WALTER, B.M.T. **Banco de germoplasma de *Passiflora* L. 'Flor da Paixão': Caracterização fenotípica, diversidade genética, fotodocumentação e herborização**. Brasília: ProImpress, 2020.

ONGENA, M.; JACQUES, P. *Bacillus lipopeptides*: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 115–125, 2008.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M. Controle biológico: Terminologia. *In*: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M. **Controle biológico no Brasil: Predadores e parasitóides**. (ed.). São Paulo: Manole, p. 635, 2002.

PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: como os patógenos atacam as plantas. *In*: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. (ed). Agronomica ceres, 2011, p.545-591.

PIO-RIBEIRO, G.; MARIANO, R. L. R. Doenças do maracujazeiro. *In*: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERAGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. (3 ed). São Paulo: Agrônômica Ceres, 1997.

RAAIJMAKERS, J. M.; BRUIJN, I.; NYBROE, O.; ONGENA, M. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. **FEMS microbiology reviews**, v.34, n.6, p.1037-1062, 2010.

RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ABD_ALLAH, E. F. *Bacillus*: A biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. **Frontiers in Physiology**, v. 8, art. 667, 2017.

RAVINDRAN, V.; RAMOS, L. M.; SINGH, A. K.; et al. Biocontrol potential of *Bacillus licheniformis* against *Colletotrichum gloeosporioides* in yam. *Biological Control*, v. 177, p. 105897, 2023.

RUGGIERO, C. Situação do maracujazeiro no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 21, p. 5-9, 2000.

SÃO JOSÉ, A. R.; REBOUÇAS, T. N. H.; PIRES, M. de M.; ANGEL, D. N.; SOUZA, I. V. B.; BOMFIM, M. P. **Maracujá – Práticas de Cultivo e Comercialização**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, p. 79, 2000.

SÃO JOSÉ, A.R. **Controle fitossanitário do maracujá**. 2015. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/controle-fitossanitario-do-maracuja/>.

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. N.; OLIVEIRA, M. R.; COSTA, P. R. Caracterização molecular de isolados de *Colletotrichum* provenientes do maracujazeiro. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo/AL, 2022.

SU, X.; LI, Y.; WANG, Z.; et al. Efeito de *Bacillus subtilis* na inibição de *Colletotrichum* spp. em maracujazeiro. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, v. 34, n. 3, p. 215–223, 2020.

TEJERA-HERNÁNDEZ, B.; ROJAS-BADÍA, M.M.; HEYDRICH-PÉREZ, M. Potencialidades do gênero *Bacillus* na promoção do crescimento vegetal e no controle de bons fitopatógenos. **Revista CENIC Ciências Biológicas**, v. 42, p.131-138, 2011.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; FISCHER, I. H.; CÂMARA, B. M. P. S.; MASSOLA JÚNIOR, N. S. First report of *Colletotrichum boninense* infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) in Brazil. **Plant Disease Notes**, v. 5, p. 70–72, 2010.

VAN DER BOSCH, R.; MESSENGER, P.S.; GUTIERREZ, A.P. **An introduction to biological control**. (ed). New York: Plenum press, 1982, 247p.

VANDERPLANK, J. **Passion flowers**. Massachusetts: MIT Press, p. 224, 1996.

VENKATARAMANAMMA, K. et al. Isolation, in vitro evaluation of *Bacillus* spp. against *Fusarium oxysporum f.sp. ciceris* and their growth promotion activity. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, [S. l.], v. 32, n. 123, p. 1–12, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s41938-022-00618-3>. Acesso em: 11 fevereiro 2025.

VILLARREAL-DELGADO, M.F.; VILLA-RODRÍGUEZ, E.D.; CIRA-CHÁVEZ, L.A.; ESTRADA-ALVARADO, M.I. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. **Rev. mex. Fitopatol**, v.36, n.1, 2018.

WANG, W.; DE SILVA, D.D.; MOSLEMI, A.; EDWARDS, J.; ADES, P.K.; CROUS, P.W.; TAYLOR, P.W.J. *Colletotrichum* Species Causing Anthracnose of Citrus in Australia. **Journal of Fungi**, v. 7, p. 47, 2021.

YAO, A.; BOCHOW, H.; KARIMOV, S.; BOTUROV, U.; SANGINBOY, S.; SHARIPOV, A. Effect of FZB 24 *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 39, n. 1, p. 323-328, 2006.

ZHANG, L.; HUANG, X.; ZHANG, Y.; HU, H.; REN, E. First Report of Anthracnose on *Passiflora edulis* Caused by *Colletotrichum siamense* in Guangdong Province in China. **Plant disease**, v.108, n.8, p. 2258, 2022.