



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**



TÂMIRES PAIXÃO CHAVES

**CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum*
ASSOCIADAS A FLORES TROPICAIS NO ESTADO DE
ALAGOAS**

**RIO LARGO - AL
2018**

TÂMIRES PAIXÃO CHAVES

**CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS A
FLORES TROPICAIS NO ESTADO DE ALAGOAS**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a Universidade Federal de Alagoas, como parte das exigências para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Iraildes Pereira Assunção

**RIO LARGO - AL
2018**

Catálogo na fonte

Universidade Federal de Alagoas

Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias

Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

C512c Chaves, Tâmires Paixão

Caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas a flores tropicais no Estado de Alagoas / Tâmires Paixão Chaves – 2018.
48 f.; il.

Monografia de Graduação em Agronomia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2018.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Iraildes Pereira Assunção

Inclui bibliografia

1. Antracnose 2. Filogenia 3. Antúrio I. Título

CDU: 635

FOLHA DE APROVAÇÃO

AUTORA: TÂMIRES PAIXÃO CHAVES

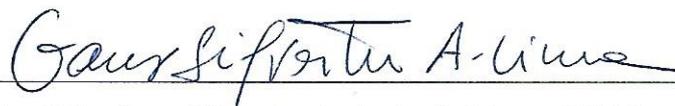
CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS A FLORES TROPICAIS NO ESTADO DE ALAGOAS

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a
Universidade Federal de Alagoas, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.



Prof^a. Dr^a. Iraildes Pereira Assunção – UFAL (Orientadora)

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima - UFAL



Prof^a. Dr^a. Edna Peixoto da Rocha Amorim – UFAL

RIO LARGO - AL
2018

À minha família, que me apoiou e me incentivou a continuar perante as dificuldades.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por seu amor eterno e incondicional, e por possibilitar todas as minhas conquistas;

À minha mãe Márcia Rocha Paixão, ao meu pai Genilson Pereira Chaves, e ao meu irmão Genilson Pereira Chaves Júnior por todo o apoio e palavras de incentivo;

À meus tios Jailson Pereira e Jaciara Mascarenhas por terem me incentivado e encorajado a continuar;

Aos professores Iraildes Pereira Assunção e Gaus Silvestre de Andrade Lima pela orientação e confiança e pelo treinamento científico durante a graduação;

Ao meu co-orientador Mariote dos Santos Brito Netto pelo suporte, apoio e todos os ensinamentos transmitidos;

Ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), pelo apoio institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos;

Meus sinceros agradecimentos aos membros do Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal (UFAL), pela disposição durante a realização deste trabalho, especialmente à Ana Raphaela pela grande contribuição direta nos trabalhos e pela amizade;

Aos meus amigos que moram em Poções-BA pelo grande apoio mesmo com a distância;

À todos os amigos de turma pelos momentos compartilhados, em especial Allana, Dérick, Delck, Victor, Wesley e Luís Carlos;

Aos amigos Mayra, Caio, Nayana, Luan e Frederico pela atenção e paciência em momentos especiais;

Por fim, a todos que de alguma forma fizeram parte desta conquista.

RESUMO

As flores tropicais são um negócio rentável e em expansão no mundo e são importantes para o setor de floricultura devido a beleza e durabilidade. A antracnose está entre as doenças mais importantes das flores tropicais devido às perdas na produção. Conhecendo a importância desta doença, os objetivos deste trabalho foram: Identificar as espécies de *Colletotrichum* obtidas de flores tropicais (*Heliconia* spp., *Anthurium* sp. e *Alpinia* sp.), bem como avaliar a patogenicidade cruzada. Foram obtidos 34 isolados de três campos de produção do estado de Alagoas. Sequência parcial do gene gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) foi amplificada para uma identificação preliminar dos isolados. Posteriormente, representantes de cada espécie, baseado nos haplótipos, tiveram outras regiões genômicas amplificadas e sequenciadas: Chitin sintase (CHS-1), região ITS-rDNA, Actina (ACT), Calmodulina (CAL) e β -Tubulina (TUB2). Para a caracterização morfocultural foram mensurados o comprimento e a largura de 50 conídios e apressórios e foram avaliadas a taxa de crescimento e a coloração das colônias. Foram identificadas três espécies pertencentes ao complexo *Colletotrichum gloeosporioides* (*C. theobromicola*, *C. tropicale* e *C. siamense*), além de um isolado de *Colletotrichum* que não se agrupou a nenhum complexo já descrito. A espécie *C. siamense* foi a mais freqüente causando antracnose em flores tropicais. Todas as espécies foram patogênicas, tanto aos hospedeiros de origem quanto aos possíveis hospedeiros avaliados.

Palavras chave: Antracnose, Filogenia, Antúrio, Helicônia, Alpinia.

ABSTRACT

Tropical flowers are a profitable and expanding business worldwide and are important to floriculture due beauty and durability. Anthracnose is among the most important diseases of tropical flowers due to losses in production. The objectives of this work were: identify *Colletotrichum* species obtained from tropical flowers (*Heliconia* spp., *Anthurium* sp. and *Alpinia* sp.) through molecular and morpho-cultural characterization, as well as to evaluate the cross-pathogenicity. Thirty four isolates were obtained from three production fields in the state of Alagoas. Partial sequence of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene (GAPDH) was amplified for a preliminary identification of the isolates. Posteriorly, representative isolates from each specie were chosen based on haplotype, and had other genomic regions amplified and sequenced using: Chitin synthase (CHS-1), the ITS-rDNA region, Actin (ACT), Calmodulin (CAL) and β -Tubulin (TUB2). For morpho-cultural characterization, were measured the length and width of fifty conidia and appressoria, as well as the rate of mycelial growth and colonial coloring. Were identified three species belonging to *Colletotrichum gloeosporioides* complex (*C. theobromicola*, *C. tropicale* and *C. siamense*), and one isolated, named *Colletotrichum* sp., wich did not grouped in any complex already described. The *C. siamense* was the most frequent specie causing anthracnose in tropical flowers. All species were pathogenic, both in their host of origin and the possible hosts evaluated.

Key words: Anthracnose, Phylogeny, Anthurium, Heliconia, Alpinia.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

Figura 1 – Sintomas de antracnose em flores tropicais.....	21
Figura 2 – Árvore filogenética de Máxima Verossimilhança do complexo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> com os dados concatenados (ACT, CHS-1, GAPDH, ITS e CAL).....	23
Figura 3 – Árvore filogenética de Máxima Verossimilhança de <i>Colletotrichum sp.</i> com os dados concatenados (ACT, CHS-1, GAPDH, ITS e TUB-2).....	24
Figura 4 – Representantes dos morfogrupos de <i>Colletotrichum spp.</i>	25
Figura 5 – Características morfológicas de <i>Colletotrichum sp.</i>	26
Figura 6 – Teste de patogenicidade em flores tropicais.....	27
Figura 7 – Patogenicidade cruzada em flores de Alpínia.....	28
Figura 8 – Patogenicidade cruzada em flores de Antúrio.....	28
Figura 9 – Patogenicidade cruzada em inflorescências de Helicônia.....	29
Tabela 1 – Sequências dos primers utilizados neste estudo.....	18
Tabela 2 – Dados morfológicos das espécies de <i>Colletotrichum</i>	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Flores tropicais.....	12
2.2 Antracnose em flores tropicais.....	13
2.3 O gênero <i>Colletotrichum</i>	14
2.4 Identificação de <i>Colletotrichum</i> spp.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1 Obtenção e preservação dos isolados de <i>Colletotrichum</i>	17
3.2 Caracterização molecular.....	17
3.3 Análise filogenética.....	18
3.4 Caracterização cultural e morfológica dos isolados.....	19
3.5 Teste de patogenicidade e patogenicidade cruzada.....	20
4 RESULTADOS	21
4.1 Análise filogenética.....	21
4.2 Caracterização morfológica e cultural de <i>Colletotrichum</i> spp.....	25
4.3 Teste de patogenicidade em flores tropicais.....	27
4.4 Teste de patogenicidade cruzada em flores tropicais.....	28
5 DISCUSSÃO	30
6 CONCLUSÃO	34
7 REFERÊNCIAS	35
ANEXO 1	41
ANEXO 2	44

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de flores tropicais é um negócio rentável e muito importante para o setor de floricultura devido a sua beleza e durabilidade, sendo considerado um dos segmentos da horticultura intensiva em ascensão no agronegócio nacional. Os países desenvolvidos possuem grandes limitações para o cultivo de flores tropicais em decorrência das condições climáticas desfavoráveis ou limitação territorial. Estes fatores estimulam a produção no Brasil, que possui em torno de 8.248 produtores de flores e plantas ornamentais que produziram uma área total de 14.992 hectares no ano de 2014 (IBRAFLOR, 2017).

Dentre as flores tropicais mais cultivadas no Brasil, os gêneros *Heliconia*, *Anthurium* e *Alpinia* merecem destaque. A região Sudeste concentra o maior número de produtores, totalizando 53,3%, seguido pelas regiões Sul com 28,6%, Nordeste 11,8%, Norte 3,5% e Centro-Oeste 2,8% (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

As flores tropicais são atacadas por vários patógenos, contudo, os fungos provocam sérios prejuízos. A antracnose é uma das doenças fúngicas mais destrutivas e perdas na produção são significativas, sendo mais severas durante o período de chuva, ideal para o desenvolvimento desses agentes. A doença é causada por espécies do gênero *Colletotrichum* e apresenta como sintomas típicos: manchas foliares de coloração marrom ou negra sobre as folhas, com bordos bem definidos, influenciando a taxa fotossintética e reduzindo a produção. Caso o patógeno atinja a parte comercial da cultura impossibilita sua comercialização.

A associação de diferentes espécies de *Colletotrichum* causando sintomas de antracnose em uma mesma cultura já foi muitas vezes relatada (FREEMAN et al., 1998; ÁLVAREZ et al., 2004). Alguns estudos visando caracterização de espécies de *Colletotrichum* divergem em seus resultados, quando contrastados parâmetros morfológicos e moleculares. Damm et al. (2012) verificaram que muitas espécies anteriormente descritas como *Colletotrichum gloeosporioides* faziam parte de um grande grupo semelhante morfológicamente, porém, quando analisados por características moleculares, verificou-se que se tratavam de espécies distintas.

Portanto, o objetivo deste estudo foi identificar as espécies do gênero *Colletotrichum* obtidas a partir de flores tropicais em áreas de plantios comerciais no estado de Alagoas, bem como avaliar a patogenicidade cruzada destas espécies em diferentes hospedeiros.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Flores Tropicais

A floricultura é um negócio emergente e de lucratividade em expansão no mundo, inclusive no Brasil (MARTINS et al., 2009), sendo considerada um dos mais promissores segmentos da horticultura intensiva no agronegócio nacional (JUNQUEIRA; PEETZ, 2008; SILVA et al., 2015). O cultivo de flores tropicais é uma atividade agrícola crescente e com sinalização para inserção mais acentuada no mercado mundial de flores não tradicionais (MARTINS et al., 2009). As plantas tropicais e exóticas constituem uma das maiores riquezas da nossa flora: exuberantes, coloridas, com formas inusitadas, sendo apreciadas no mercado nacional e internacional também por sua durabilidade e capacidade de, mesmo sozinhas, gerar composições surpreendentes (CASTRO, 2006).

O mercado mundial de flores e plantas ornamentais está hoje em plena ascensão no Brasil e no mundo por destacar-se como um agronegócio gerador de renda, fixador de mão-de-obra no campo e adequado como cultura alternativa para pequenos produtores (LINS; COELHO, 2004). Os países desenvolvidos, apesar de apresentarem elevado consumo *per capita*, possuem limitações para o cultivo de flores tropicais devido às condições climáticas desfavoráveis ou limitação territorial. Tais fatores estimulam a produção destas flores no Brasil, especialmente nas regiões Norte e Nordeste (LOGES; TEIXEIRA; CASTRO, 2005).

As condições predominantes de temperatura e umidade relativa são bastante favoráveis para o cultivo das diversas espécies de plantas tropicais durante o ano todo no nordeste brasileiro (WARUMBY; COELHO; LINS, 2004). O Brasil possui aproximadamente 8.248 produtores de flores e plantas ornamentais, distribuídos em 14.992 hectares, até o ano de 2014. A região Sudeste concentra o maior número de produtores, totalizando 53,3%, seguido pelas regiões Sul com 28,6%, Nordeste 11,8%, Norte 3,5% e o Centro-Oeste 2,8% (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). De acordo com Instituto Brasileiro de Floricultura, o faturamento nacional atingiu R\$ 6,7 bilhões em 2016, sendo o estado de São Paulo responsável por 70 a 80% da produção do país (IBRAFLOR, 2017).

No atrativo mundo da floresta tropical úmida, as flores tropicais encantam pela sua diversidade de formas, textura e cores. No mercado de flores, o gênero *Heliconia*, único membro da família Heliconiaceae, merece destaque (LAMAS, 2004). As helicônias são plantas monocotiledôneas, que apresentam de 200 a 250 espécies (BERRY; KRESS, 1991). Embora a maioria delas seja encontrada em regiões tipicamente úmidas, algumas estão adaptadas a regiões mais secas (MOSCA; CAVALCANTE, 2005). Conhecidas também como

bananeirinha-de-jardim, banana-de-macaco e falsa-ave-do-paraíso, são de origem neotropical, mais precisamente da região noroeste da América do Sul, e podem ocorrer em altitudes de até 2.000m. Originalmente incluído na família Musaceae, o gênero *Heliconia* mais tarde passou a constituir a família monotípica Heliconiaceae (CASTRO, 1995; MOSCA; CAVALCANTE, 2005).

O gênero *Anthurium*, originário da Venezuela e da Colômbia, compreende mais de 600 espécies conhecidas popularmente como “antúrio”, aproximadamente 130 espécies são encontradas no Brasil. O gênero pertence à família Araceae, a qual é amplamente distribuída por todo o país. Destaca-se por ser uma das inflorescências que adquirem o maior preço unitário, tanto no mercado interno quanto no externo, sendo a segunda flor tropical mais comercializada no mundo. No Brasil a produção está concentrada no Vale da Ribeira, São Paulo (TOMBOLATO; CASTRO, 2005).

A família Zingiberaceae compreende cerca de 50 gêneros e 1000 espécies de plantas perenes e, destacando-se *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum, *Zingiber spectabile* Griff. e *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Sm. *Alpinia purpurata* é uma espécie originária da Ásia, sendo amplamente disseminada em várias regiões de clima tropical (BEZERRA; LOGES, 2005). Cultivada há muito tempo como planta ornamental em paisagismo, só recentemente seu uso como flor de corte vem se intensificando, devido à durabilidade e beleza das inflorescências, juntamente com o seu florescimento durante o ano todo. Entre as zingiberáceas cultivadas como flor de corte, a alpinia é a mais difundida (WOOD, 1995). Atualmente, no Brasil, as variedades mais cultivadas são: Red Ginger (vermelha), Pink Ginger (rosa), Jungle King (vermelha), Jungle Queen (rosa) e Eileen MacDonald (rosa). Existem outras variedades resultantes de cruzamento que ainda são pouco conhecidas no país (BEZERRA; LOGES, 2005)

Dentre os fatores que levam a redução da produtividade, citam-se os problemas fitossanitários. No Brasil, merecem destaque as pragas (pulgões, colchonilhas, tripes, ácaros e moluscos) e doenças fúngicas.

2.2 Antracnose em flores tropicais

A antracnose em flores tropicais é uma das doenças fúngicas mais destrutivas e perdas na produção são significativas, sendo mais severas durante o período de chuva, o qual é ideal para o seu desenvolvimento (PEREIRA, 2005). Conhecida há mais de 2000 anos, é considerada a doença mais antiga na fitopatologia, com registro nos achados dos povos gregos e latinos (Enciclopédia Agrícola Brasileira, 1995).

No Brasil, a antracnose destaca-se das demais doenças fúngicas em plantas ornamentais por afetar várias espécies importantes como *Anthurium andraeanum* (PITTA; CARDOSO; CARDOSO, 1990), *Etilingera elatior*, *Tapeinochilos ananassae*, *Heliconia stricta*, *H. psittacorum* x *H. sphathocircinata* cv. Golden Torch, *H. bihai* (LINS; COELHO, 2004) e *H. chartacea* cv. Sex Pink (BARGUIL; OLIVEIRA; COELHO, 2005) e *Calathea burle-max* (ALMEIDA et al., 2006). Segundo os autores citados, o fungo *C. gloeosporioides* tem sido associado a esses hospedeiros através de caracterização morfológica e de patogenicidade.

As doenças causadas por *Colletotrichum* apresentam como sintomas típicos: manchas foliares de coloração marrom ou negra sobre as folhas, com bordos bem definidos, influenciando a taxa fotossintética e reduzindo a produção. Caso o patógeno atinja a parte comercial da cultura inviabiliza sua comercialização (SARDINHA et al., 2012). No entanto, encontra-se na literatura relatos da espécie *C. gloeosporioides* descrita como causadora de antracnose em plantas ornamentais tropicais (WARUMBY; COELHO; LINS, 2004). Outra espécie associada a plantas ornamentais é *C. musae* (Berk. & Curt.) Arx, descrita em 1957, tendo sido observado em *H. caribea* Jaquini, *H. latispatha* Benth, *H. psittacorum* e *H. rostrata* em plantios na Venezuela (MADRIZ; SMITS; NOGUEIRA, 1991). Várias medidas de controle têm sido adotadas pelos produtores para manter a alta qualidade das flores e atender às exigências do mercado (SOLOGUREN; JULIATTI, 2007).

2.3 O gênero *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum* pertence ao grupo dos fungos Anamórficos, classe Sordariomycetes, ordem Glomerellales e família Glomerellaceae (*Dictionary of the fungi*, 2008). Possui micélio septado, conídios hialinos e unicelulares, reprodução assexuada por meio dos conídios que são produzidos apicalmente em conidióforos do tipo acérvulos (PUTZKE, J.; PUTZKE, M., 2002) e apressórios que são estruturas de infecção que possibilitam a penetração do fungo no hospedeiro (MENEZES, 2006). Foi descrito pela primeira vez em 1831 por Corda, tendo como espécie tipo: *C. gloeosporioides* [teleomorfo: *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. and & Von Schrenk] (SUTTON, 1992). Von Arx, em 1957, concluiu que as espécies de *Colletotrichum*, *Vermicularia* e *Gloeosporium* pertenciam ao mesmo gênero, decidindo então conservar o nome *Colletotrichum*.

Apontado como um dos principais patógenos causadores de doenças em plantas, o gênero *Colletotrichum* possui uma ampla distribuição e inespecificidade, infectando diversas culturas de importância econômica como cereais, gramíneas, hortaliças, legumes e frutas

(IVEY, NAVA-DIAZ, MILLER, 2004; ROBERTS, PERNEZNY, KUCHARREK, 2012; WEIR, JOHNSTON, DAMM, 2012).

As espécies do gênero apresentam como características peculiares a alta variabilidade fenotípica e ampla gama de hospedeiros (SUTTON, 1992; CANNON; BUDDIE; BRIDGE, 2008; WEIR, JOHNSTON, DAMM, 2012). Phoulivong et al. (2010) relataram *C. gloeosporioides* infectado pelo menos 1000 espécies de planta, sendo responsável por doenças economicamente importantes denominadas de antracnoses. A doença provoca danos nas folhas e inflorescências em várias espécies de flores tropicais (WARUMBY; COELHO; LINS, 2004; BARGUIL et al., 2005).

A associação de diferentes espécies de *Colletotrichum* causando sintomas de antracnose em uma mesma cultura já foi muitas vezes relatada (FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998; ÁLVAREZ et al., 2004), especialmente as espécies do complexo *C. gloeosporioides*.

2.4 Identificação de *Colletotrichum* spp.

Os estudos para identificação e taxonomia do gênero *Colletotrichum* consideram, em conjunto, as características morfológicas, culturais, fisiológicas e moleculares (BONETT et al., 2010; WEIR, JOHNSTON, DAMM, 2012). Assim, a realização de pesquisas mais detalhadas sobre morfologia, caracteres culturais e patogenicidade levou ao aumento do número de espécies do gênero *Colletotrichum* (COLATTO, 2010).

Trabalhos visando a caracterização de espécies de *Colletotrichum* divergem em seus resultados, quando contrastados parâmetros morfológicos e moleculares. Damm et al. (2012) verificaram que muitas espécies anteriormente descritas como *Colletotrichum gloeosporioides* faziam parte de um grande grupo semelhante morfológicamente, porém, quando analisados por características moleculares, comprovou-se que se tratavam de espécies distintas.

O sequenciamento da região ITS do 5.8S rDNA tem sido amplamente utilizado para identificação molecular das espécies do gênero *Colletotrichum* (MILLS; SREENIVASAPRASAD; BROWN, 1992). A epitificação para *C. gloeosporioides* com base nas sequências de ITS, por exemplo, possibilitou um grande avanço no entendimento deste gênero (CANNON; BUDDIE; BRIDGE, 2008). No entanto, já são conhecidas as limitações desta região para identificação de algumas espécies, e o desenvolvimento de genes mais informativos tornou-se cada vez mais necessário (SHARMA; PINNAKA; SHENOY, 2013; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; SILVA et al., 2011).

Para compreender melhor a divergência filogenética de espécies de *Colletotrichum* estudos têm mostrado o uso de vários marcadores filogenéticos como actina (ACT), quitina sintase (CHS-1), β -tubulina (TUB2), calmodulina (CAL), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), histamina (HIS3), glutamina sintetase (GS), DNA lyase (apn2), região intergênica de apn2 e MAT1-2-1 (ApMat), (CANNON et al., 2012; WEIR, JOHNSTON, DAMM, 2012; PENG et al., 2012; SHARMA et al., 2013). Através de análise multilocus, Jayawardena et al. (2016) dividiram o gênero *Colletotrichum* em 11 principais complexos (*gloeosporioides*, *boninense*, *acutatum*, *graminicola*, *spaethianum*, *destructivum*, *dematium*, *truncatum*, *caudatum*, *orbiculare*, *gigasporum*). O estabelecimento destes complexos é feito com base na análise filogenética, onde clados distintos são formados com espécies geneticamente próximas entre si, ou seja, cada clado corresponde a um complexo.

No Brasil, as pesquisas sobre problemas fitossanitários em plantas ornamentais ainda são escassos, sobretudo os referentes à etiologia de antracnose. Portanto, o objetivo do presente estudo foi identificar as espécies do gênero *Colletotrichum* obtidas a partir de espécies de flores tropicais em áreas de plantios comerciais no estado de Alagoas, bem como avaliar a patogenicidade cruzada.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia Molecular do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) localizado no km 85 da BR 104 Norte (9°27'54.71"S – 35°49'39.27"O), no Município de Rio Largo-AL.

3.1 Obtenção e preservação dos isolados de *Colletotrichum* spp

Foram coletadas inflorescências de espécies tropicais (*Heliconia* spp., *Anthurium* sp. e *Alpinia* sp.) com sintomas típicos de antracnose em áreas de plantios comerciais, localizados no estado de Alagoas. Uma lesão de cada inflorescência foi cortada na região de transição entre o tecido doente e o sadio, e retirados quatro fragmentos. Foi realizado isolamento indireto com o procedimento de desinfestação superficial na seguinte sequência: álcool a 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio a 1% por 1 minuto, e duas lavagens em água destilada esterilizada (ADE) por 30 segundos cada. Os tecidos foram secos em papel filtro esterilizado e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). As placas contendo o meio de cultura e os fragmentos foram mantidas em temperatura ambiente (aproximadamente 28°C) durante dois dias. Observado o crescimento do patógeno, foram retirados discos (5 mm) das bordas das colônias e, posteriormente, transferidos para novas placas de Petri contendo meio de cultura BDA e mantidos em temperatura ambiente por sete dias. Os isolados foram previamente identificados após a esporulação como *Colletotrichum* spp. (SUTTON, 1980), onde culturas monospóricas foram obtidas para realização dos demais estudos. As culturas monospóricas foram obtidas conforme a metodologia proposta por Ho e Ko (1997). Os isolados foram preservados em água, através do método de *Castellani*, em tubos de ensaio contendo meio BDA e em fragmentos de papel e, posteriormente, depositados na Coleção da UFAL.

3.2 Caracterização molecular

Para a extração de DNA genômico foi utilizado o protocolo de Doyle; Doyle (1987). Posteriormente, parte do gene Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (TEMPLETON et al., 1992), foi amplificado para todos os isolados como medida inicial da diversidade genética de espécies. Posteriormente, representantes de cada espécie, baseado nos haplótipos encontrados no presente trabalho, foram amplificados com outras regiões genômicas: Actin (ACT) (CARBONE; KOHN, 1999), Calmodulin (CAL) (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012), Chitin syntase (CHS) (CARBONE; KOHN, 1999), β -Tubulin 2 (O'DONNELL; CIGELNIK, 1997; GLASS; DONALDSON, 1995) e a região

rDNA Internal Transcribed spacer (ITS-rDNA) (WHITE et al., 1990) (Tabela 1), para garantir maior confiabilidade na identificação e posicionamento taxonômico definitivo das espécies do gênero *Colletotrichum*. As reações de PCR foram realizadas com tampão 10x, MgCl₂ 50 mM, dNTPs 10 mM, 10 µM de cada oligonucleotídeo, 1U de Taq DNA Polimerase, 1µL de DNA total, o volume final das reações foram ajustados para 30µL com água Milli-Q. Os produtos amplificados, foram submetidos a eletroforese em gel de agarose 1,5%, corados com brometo de etídeo e observados sob luz UV. Os produtos de PCR foram enviados para seqüenciamento na MacroGen Inc. (Seoul, Coréia do Sul).

Tabela 1. Sequências dos primers utilizados neste estudo.

Gene	Primer	Sequencia (5'-3')	Referências
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	White et al., 1990
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	
ACT	ACT-512F	ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC	Carbone; Kohn, 1999
	ACT-783R	TACGAGTCCTTCTGGCCCAT	
CAL	CL1C	GARTWCAAGGAGGCCTTCTC	Weir <i>et al.</i> 2012
	CL2C	CTTCTGCATCATGAGCTGGAC	
CHS-1	CHS-79F	TGGGGCAAGGATGCTTGGGAAGAAG	Carbone; Kohn, 1999
	CHS345R	TGGAAGAACCATCTGTGAGAGTTG	
GAPDH	GDF	GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA	Templeton et al., 1992
	GDR	GGGTGGAGTCGTACTIONGAGCATGT	
TUB2	T1	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	O'Donnell; Cigelnik, 1997
	Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC	Glass; Donaldson, 1995

ITS: Internal transcribed dismutase; **ACT:** Actin; **CAL:** Calmodulin; **CHS-1:** Chitin synthase; **GAPDH:** Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; **TUB2:** β-Tubulin 2.

Fonte: CHAVES, 2018.

3.3 Análise Filogenética

As seqüências foram inicialmente alinhadas com o software ClustalX v. 1.83 (THOMPSON et al. 1997), utilizando os seguintes parâmetros: parâmetros de alinhamento par a par (gap opening = 10, gap extension = 0.1) parâmetros de alinhamento múltiplo (gap opening = 10, gap extension = 0.2, transition weight = 0.5, delay divergent sequences = 25 %). Os alinhamentos foram ajustados manualmente quando necessário. Os indels (gaps) foram considerados na análise filogenética utilizando GapCoder conforme descrito por Young e Healy (2003). A confiabilidade das árvores obtidas foi avaliada a partir de 1 000 replicações de bootstrap (HILLIS; BULL, 1993). Sequências de isolados tipos de *Colletotrichum* foram obtidas do GenBank e incluídas nas análises (Tabela 2). Sequências parciais dos genes ACT, CAL, CHS, GAPDH e região rDNA-ITS foram analisadas separadamente e concatenadas

para separação das espécies. A filogenia foi conduzida utilizando o software MEGA v.6 (TAMURA et al. 2013) para a estimativa de Máxima Verossimilhança (ML) e para Inferência Bayesiana (BI) usando o MrBayes v. 3.0b4 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003) no portal CIPRES. O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado para os dados de cada região genômica usando MrModeltest 2.3 (POSADA; BUCKLEY, 2004) de acordo com o Akaike Information Criterion (AIC). O método da cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC) foi utilizado para inferência Bayesiana. As quatro cadeias MCMC foram conduzidas simultaneamente, iniciando as árvores aleatoriamente até 10.000.000 de gerações, para cada conjunto de dados. As árvores foram amostradas a cada 1.000 gerações, resultando em 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores foram descartadas da análise, como uma fase de *burn-in*. Os valores de probabilidade posterior (RANNALA; YANG, 1996) foram determinados a partir de uma árvore consenso *majority-rule* gerada com as 7.500 árvores remanescentes. As árvores foram visualizadas e editadas nos programas FigTree v. 1.4 (ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree).

Para determinar se um clado pode ser reconhecido como uma linhagem evolutiva independente é aplicada a abordagem de reconhecimento de espécies filogenéticas de concordância genealógica (GCPSR sensu DETTMAN; JACOBSON; TAYLOR, 2003). Um clado é considerado uma linhagem evolutiva independente se satisfazer um dos dois critérios seguintes: concordância genealógica ou não discordância genealógica. O critério de concordância genealógica é satisfeito se o clado estiver presente na maioria das árvores de genes individuais. Para o critério de não discordância genealógica, o clado deve ser bem suportado nas análises de Máxima Verossimilhança e de Inferência Bayesiana (≥ 70 e $\geq 0,95$, respectivamente) de pelo menos um gene, e não pode ser contraditório em qualquer outra árvore de gene individual no mesmo nível de suporte. Novas espécies são reconhecidas se o clado for reconhecido como uma linhagem evolutiva independente, apresentar suporte significativo nas análises de ML e BI para o conjunto de dados concatenado de sete locus e não agrupar dentro de clados que contenham qualquer tipo de espécie descrita anteriormente em ambas às análises.

3.4 Caracterização cultural e morfológica dos isolados

As espécies de *Colletotrichum* identificadas pelas análises filogenéticas foram selecionadas para caracterização morfocultural (crescimento micelial, morfologia da colônia, caracterização de conídios e apressórios). A caracterização morfológica das colônias foi realizada medindo o diâmetro das colônias (mm) em dois sentidos perpendiculares, a 25°C no

escuro por sete dias em meio de cultura BDA sintético (Potato-Dextrose-Ágar, Kasvi). As estruturas reprodutivas e apressórios das espécies representantes, separadas com base nos haplótipos, de *Colletotrichum* foram mensuradas (comprimento e largura de 50 conídios e apressórios), sob microscópio (Olympus CKX41SF, software de captura de imagem CellSens Standard – Olympus 2010), e foram realizadas as médias.

3.5 Teste de patogenicidade e patogenicidade cruzada

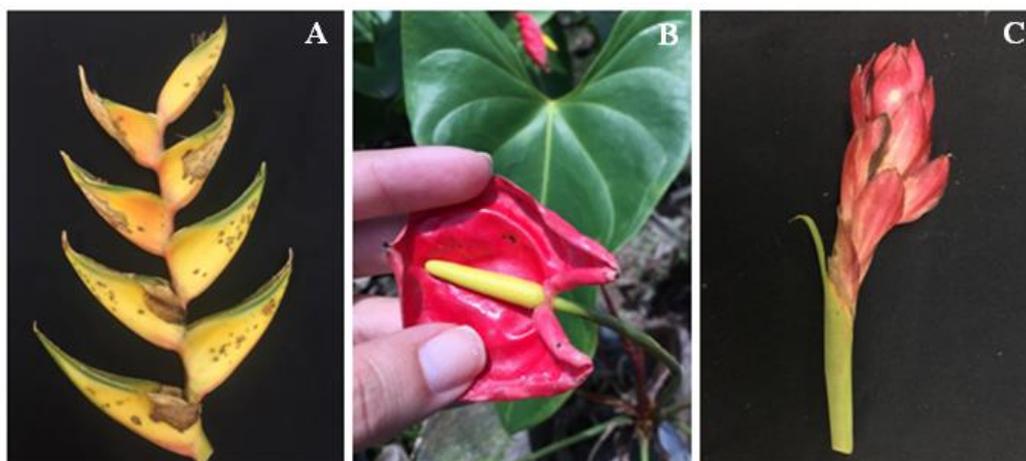
Para testar a patogenicidade dos isolados de *Colletotrichum*, foram utilizadas inflorescências sadias de espécies tropicais (*Heliconia* spp., *Anthurium* sp. e *Alpinia* sp.). O material foi lavado com detergente e água corrente e, após a secagem, foram feitos ferimentos com auxílio de uma agulha esterilizada. Para as inoculações foram utilizadas suspensões de esporos na concentração de 10^6 conídios/ml, onde 10 μ L foram depositados sobre os ferimentos em pontos equidistantes, com quatro repetições para cada isolado. Como controle, foi utilizado água destilada esterilizada (ADE). Posteriormente, as inflorescências foram acondicionadas em câmara úmida com sacos plásticos transparentes contendo papel filtro umedecido com cinco mililitros de ADE. A câmara úmida foi retirada 48 horas após a inoculação. Os experimentos foram mantidos em estufa incubadora Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas até a observação dos sintomas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. A patogenicidade dos isolados foi avaliada após o aparecimento de sintomas.

4 RESULTADOS

4.1 Análise Filogenética

Um total de 34 isolados do gênero *Colletotrichum* foi obtido a partir de amostras de flores tropicais coletadas em diferentes regiões de cultivo no estado de Alagoas, Brasil (Figura 1).

Figura 1. Sintomas de antracnose em flores tropicais.



A: Sintomas de antracnose em inflorescência de Helicônia; B: Sintomas de antracnose em inflorescência de Antúrio; C: Sintomas de antracnose em inflorescência de Alpínia.
Fonte: CHAVES, 2018.

Para a análise filogenética inicial, o gene que codifica para proteína gliceraldehide 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) foi empregado para a identificação parcial de todos os isolados (dados não mostrados) e a seleção de um subgrupo de isolados. A filogenia com as sequências individuais e concatenadas baseadas nos genes actina (ACT), calmodulina (CAL), chitinsynthase (CHS-1) e a região rDNA internal transcribed spacer (rDNA ITS), juntamente com as sequências adicionais obtidas do Genbank (Anexo 1), resultou em quatro espécies: três dentro do complexo *gloeosporioides* e uma espécie de *Colletotrichum* que não pertence a nenhum complexo já descrito. Os números de acesso do GenBank estão listados no Anexo 1.

As análises de Máxima Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (IB) com os genes ACT, CAL, CHS, GAPDH e a região rDNA ITS separaram os isolados do presente estudo em 4 espécies.

Os conjuntos de dados foram analisados separadamente, resultando em 20 árvores filogenéticas, sendo 10 de Inferência Bayesiana (Anexo 2), uma para cada gene/região, e duas com os dados concatenados (Figuras 2 e 3). O conjunto de dados concatenados do complexo *gloeosporioides* resultou em dois isolados (COUFAL0203, COUFAL0196) agrupados com a espécie *C. theobromicola* (CBS 124945), um isolado (COUFAL0197) com *C. tropicale* (CBS

124949) e quatro (COUFAL0201, COUFAL0199, COUFAL0198, COUFAL0200) com *C. siamense* (ICMP 18578) e um isolado (COUFAL0202), que quando analisado pelos dados individuais (ACT, CHS, rDNA ITS, GAPDH e TUB) e concatenados, não agrupou com nenhuma espécie tipo do gênero *Colletotrichum* conhecida, sendo aqui denominado de *Colletotrichum* sp..

Na análise do Dataset individual, observou-se que os genes CAL e GAPDH apresentaram a mesma topologia dos dados concatenados, já os genes ACT e CHS mostraram que somente a espécie *C. theobromicola* apresentou topologia similar a análise de dados concatenados. Para a região rDNA ITS somente a espécie *C. siamense* (COUFAL0201, COUFAL0199, COUFAL0198) demonstrou parcial similaridade com os dados combinados.



Figura 2. Árvore filogenética de Máxima Verossimilhança do complexo de espécies *Colletotrichum gloeosporioides* com os dados concatenados (ACT, CHS-1, GAPDH, ITS e CAL). Os valores de suporte para Inferência Bayesiana e Máxima Verossimilhança estão mostrados nos ramos. (*) Espécie tipo.

Fonte: CHAVES, 2018.

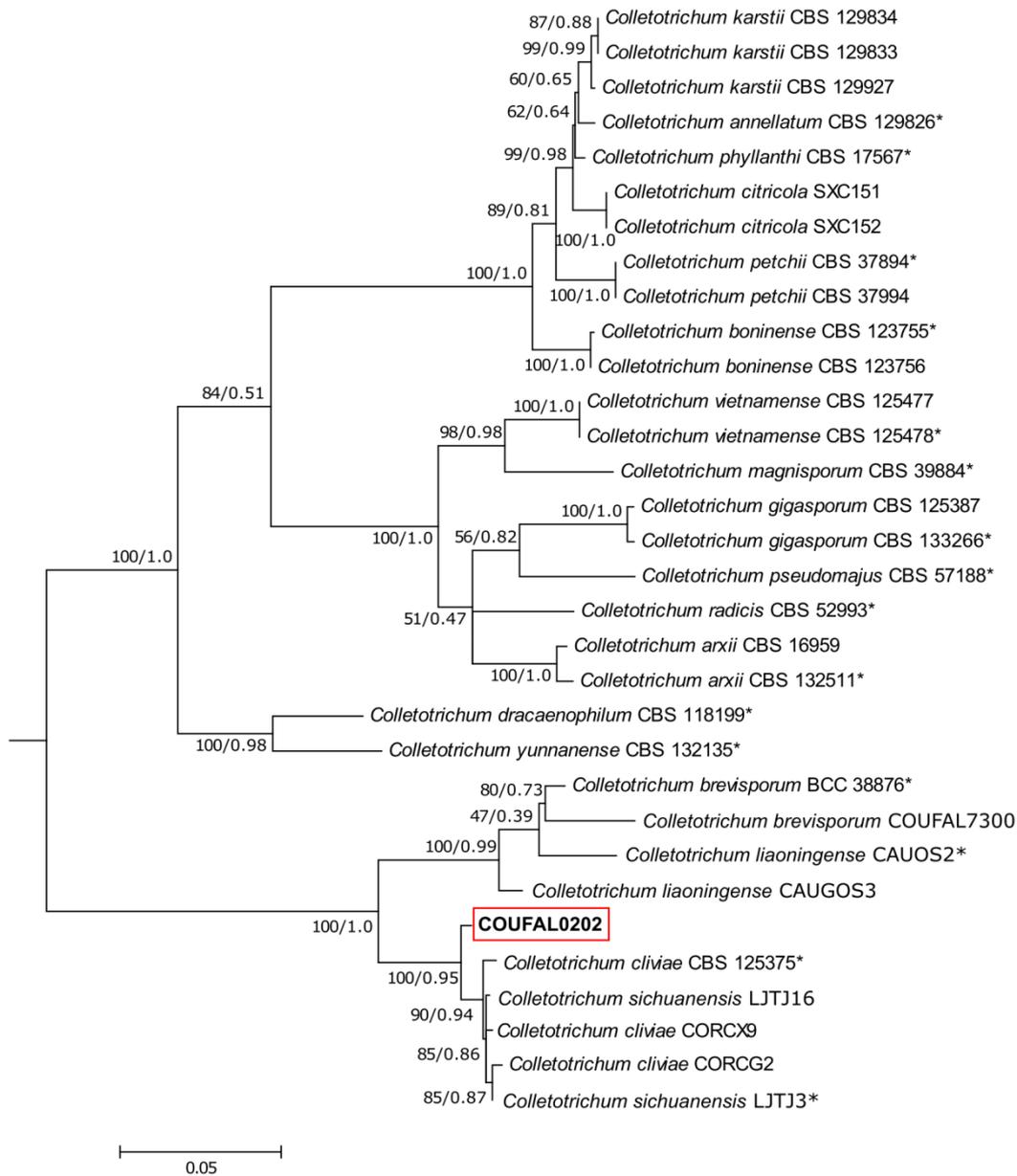


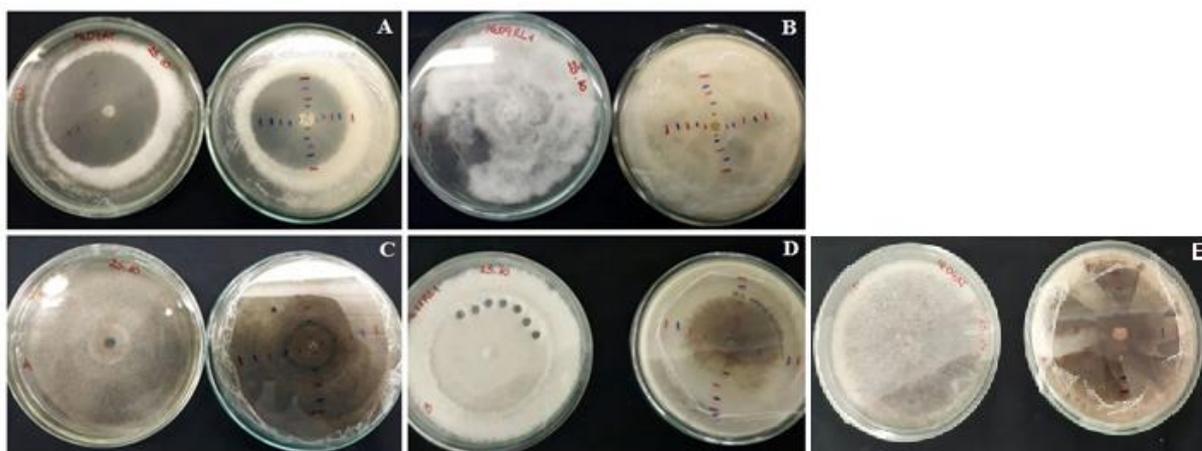
Figura 3. Árvore filogenética de Máxima Verossimilhança de *Colletotrichum* sp. com os dados concatenados (ACT, CHS-1, GAPDH, ITS e TUB-2). Os valores de suporte para Inferência Bayesiana e Máxima Verossimilhança estão mostrados nos ramos. (*) Espécie tipo.

Fonte: CHAVES, 2018.

4.2 Caracterização Morfológica e Cultural de *Colletotrichum* spp.

Dentre os 34 isolados obtidos, oito isolados representativos, separados com base nos haplótipos, foram classificados em cinco grupos de acordo com a característica da coloração da colônia. O grupo 1 inclui dois isolados (COUFAL0197 e COUFAL0201) que apresentaram coloração branca e bordas com micélio aéreo abundante. O grupo 2 foi composto por dois isolados (COUFAL0198, COUFAL0200) que possuíram a coloração branca com micélio aéreo abundante. O grupo 3 possui um único isolado (COUFAL0202) com coloração marrom esverdeado e pouco micélio aéreo. Os isolados COUFAL0199 e COUFAL0203 formaram o grupo 4 onde a coloração foi branco com centro do reverso marrom. Já o grupo 5, representado pelo isolado COUFAL0196, apresentou coloração marrom acinzentado (Figura 4).

Figura 4. Representantes dos morfogrupo de *Colletotrichum* spp.

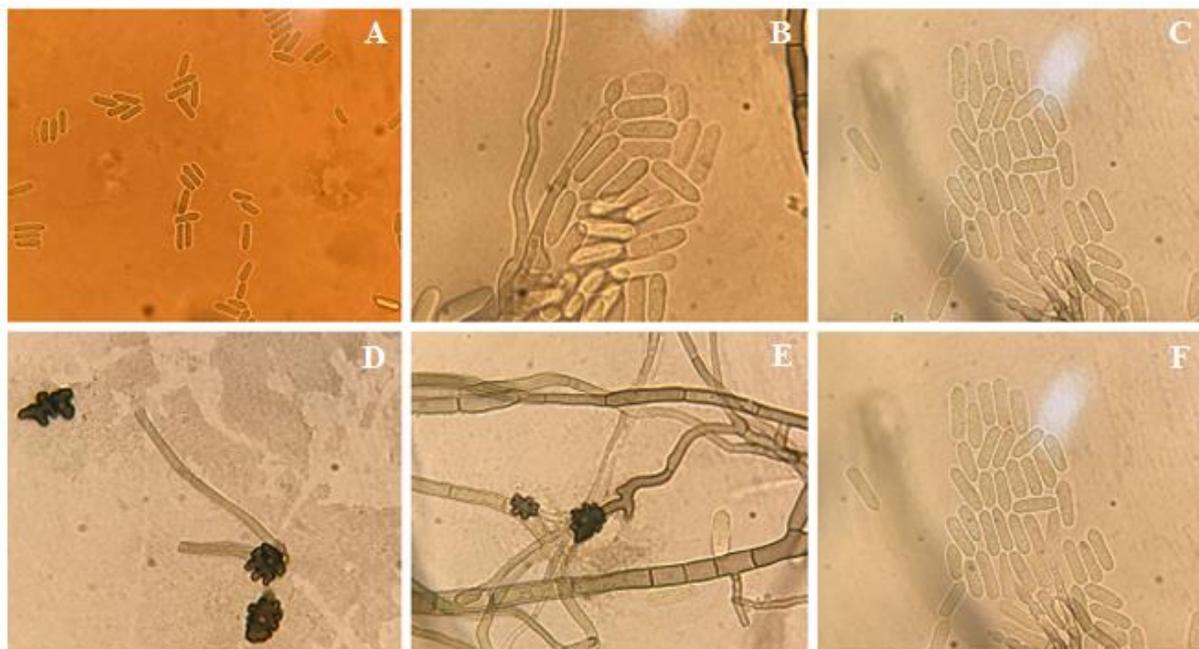


A: Isolado representante do morfogrupo 1; B: Isolado representante do morfogrupo 2; C: Isolado representante do morfogrupo 3; D: Isolado representante do morfogrupo 4; E: Isolado representativo do morfogrupo 5.

Fonte: CHAVES, 2018.

Com relação à morfologia dos conídios, houve a prevalência do formato reto, cilíndrico, com ápices arredondados; seguido de reto, com constrição e, por fim, reto, cilíndrico, com ápices arredondados, sendo um mais estreito que o outro. Após a germinação, alguns conídios emitiram um ou dois tubos germinativos com apressórios, os quais apresentaram forma globosa ou ovoide (mais freqüente), com exceção do isolado COUFAL0202 que apresentou forma digitada (Figura 5). Os resultados de mensuração dos conídios e apressórios encontram-se descritos na tabela 2. As dimensões dos conídios de *Colletotrichum* sp. diferiram das espécies já descritas na literatura para o gênero.

Figura 5. Características morfológicas de *Colletotrichum* sp.



A, B e C: Esporos de *Colletotrichum* sp.; D e E: apressórios de *Colletotrichum* sp.; F: Células conidiogênicas de *Colletotrichum* sp.
Fonte: CHAVES, 2018.

Tabela 2. Dados morfológicos das espécies de *Colletotrichum*.

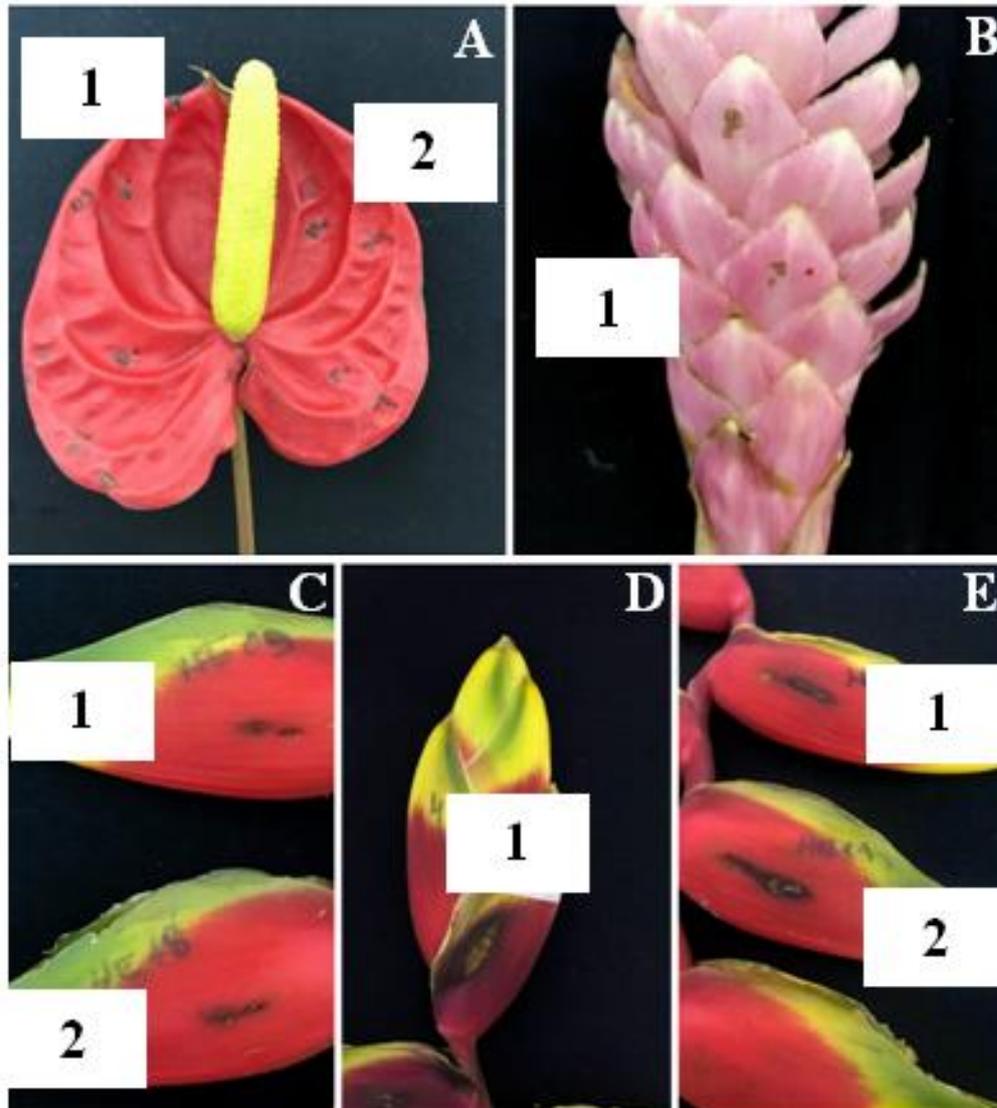
ESPÉCIES	MÉDIAS			
	ESPOROS (μm)	APRESSÓRIOS (μm)	CM (mm/dia)	IVCM
<i>Colletotrichum</i> sp.	20.63 x 6.22	16.25 x 14.55	45.4	17.8
<i>C. theobromicola</i>	15.26 x 4.42	9.31 x 7.12	43.6	17.2
<i>C. siamense</i>	13.37 x 5.55	10.11 x 7.53	41.7	14.9
<i>C. tropicale</i>	16.95 x 6.08	9.50 x 7.44	45.1	16.4

CM: Crescimento micelial; IVCM: Índice de velocidade de crescimento micelial.
Fonte: CHAVES, 2018.

4.3 Teste de patogenicidade em flores tropicais

Todos os isolados testados apresentaram patogenicidade quando inoculados em flores e inflorescências sadias de helicônia, antúrio e alpínia (Figura 6). As lesões iniciais, características de antracnose, surgiram entre três a quatro dias após a inoculação.

Figura 6. Teste de patogenicidade em flores tropicais



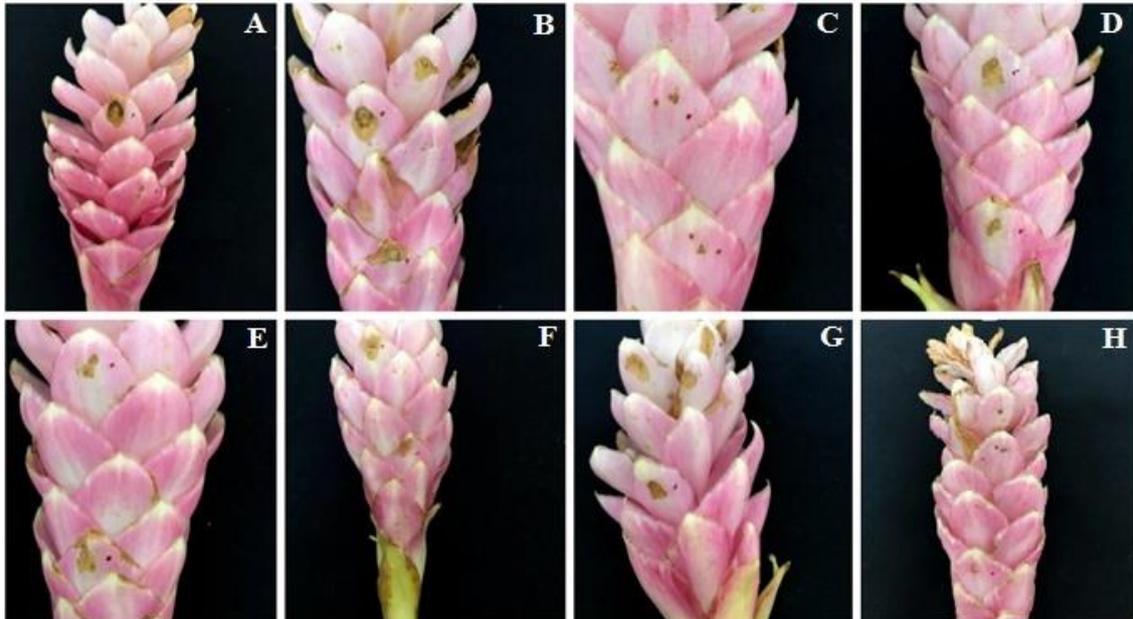
A1: COUFAL0202; A2: COUFAL0203; B1: COUFAL0201; C1: COUFAL0198; C2: COUFAL0200; D1: COUFAL0196; E1: COUFAL0197; COUFAL0199.

Fonte: CHAVES, 2018.

4.4 Teste de patogenicidade cruzada em flores tropicais

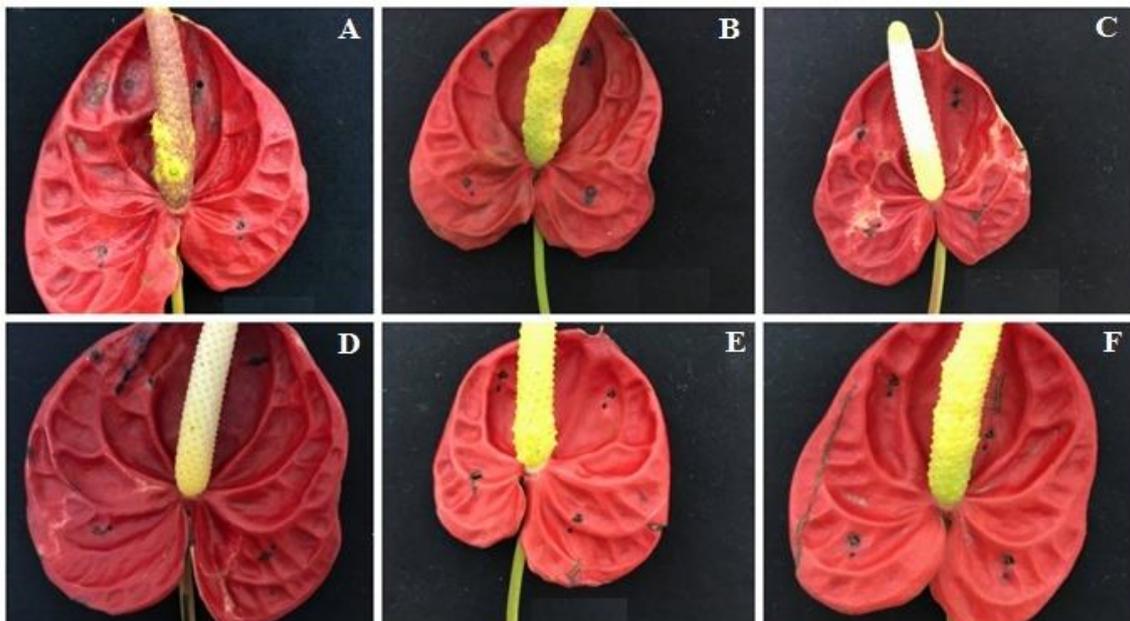
Todos os isolados foram patogênicos às diferentes flores tropicais. As lesões iniciais, características de antracnose, surgiram entre três a quatro dias após a inoculação (Figuras 7-9).

Figura 7. Patogenicidade cruzada em flores de alpínia.



A: COUFAL0196; B: COUFAL0199; C: COUFAL0203; D: COUFAL0200; E: COUFAL0198; F: COUFAL0202; G: COUFAL0197; H: Testemunha.
Fonte: CHAVES, 2018.

Figura 8. Patogenicidade cruzada em flores de antúrio.



A: COUFAL0200; B: COUFAL0201; C: COUFAL0196; D: COUFAL0198; E: COUFAL0197; F: COUFAL0199.
Fonte: CHAVES, 2018.

Figura 9. Patogenicidade cruzada em inflorescências de *Helicônia*



A: COUFAL0203; B: COUFAL0102; C: COUFAL0202.
Fonte: CHAVES, 2018.

5 DISCUSSÃO

Atualmente a maioria das espécies de *Colletotrichum* são agrupadas em complexos (CANON et al., 2012; DAMM et al., 2012a; DAMM et al., 2012b; DAMM et al., 2013) e no presente trabalho foi possível identificar três espécies de *Colletotrichum* pertencentes ao complexo *C. gloeosporioides* (*C. tropicale*, *C. theobromicola* e *C. siamense*) e uma espécie que não se agrupou em nenhum complexo, aqui denominada de *Colletotrichum* sp. Nenhuma das espécies identificadas foi relatada em flores tropicais até o momento, portanto, esta é a primeira ocorrência no mundo. No Brasil, existem relatos destas espécies causando antracnose em várias culturas de importância econômica como cereais, gramíneas, hortaliças, legumes e frutas (IVEY; NAVA-DIAZ; MILLER, 2004; ROBERTS; PERNEZNY; KUCHAREK, 2012). A maioria das espécies de *Colletotrichum* apresenta alta variabilidade fenotípica e ampla gama de hospedeiros (SUTTON, 1992; CANNON; BUDDIE; BRIDGE, 2008; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012).

A principal espécie associada à antracnose em flores tropicais é *C. gloeosporioides* (PITTA; CARDOSO; CARDOSO, 1990; FREIRE; COSTA; VIANA, 2003, WARUMBY; COELHO; LINS, 2004) sendo conhecida por afetar várias espécies importantes. No Brasil, as únicas espécies associadas à flores tropicais são *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, as quais foram identificadas por caracterização morfológica e comparação de seqüências da região ITS-rDNA (BARGUIL et al., 2009; LINS; COELHO, 2004). No estado de Alagoas já foi observada a ocorrência de *C. gloeosporioides* em gengibre abacaxi (*Tapeinochilos ananassae*) e em bastão do imperador (*Etilingera elatior*) (FURTADO et al., 2012; PEIXINHO, 2009). Outra espécie associada à plantas ornamentais é *C. musae* (Berk. & Curt.) Arx, sendo observada em *H. caribea*, *H. latispatha*, *H. psittacorum* e *H. rostrata* em plantios na Venezuela (MADRIZ; SMITS; NOGUERA, 1991).

Rojas et al. (2010) descreveram *Colletotrichum tropicale* a partir de frutos de cacau em florestas tropicais do Panamá, sendo um fitopatógeno comum associado à *Theobroma cacao* e *Annona muricata* no país (UDAYANGA et al., 2013). Há relatos da ocorrência desta espécie associada à manga (*Mangifera indica*), pinha (*Annona squamosa*), graviola (*A. muricata*) pimentas (*Capsicum* spp.) e pimentão (*C. annum*) no Brasil (LIMA et al., 2013; COSTA, 2014; SILVA et al., 2017); em cacau (*Theobroma cacao*) e graviola, no Panamá (ROJAS et al., 2010; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012); graviola e lichia (*Litchi chinensis*), no Japão (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012) e gramínea (*Terpsichore taxifolia*), em Porto Rico (DOYLE et al., 2013).

A espécie *C. siamense* já foi relatada associada à pimenta na Índia, Laos e Tailândia (SHARMA; SHENOY, 2014; PHOULIVONG; MCKENZIE; HYDE, 2012), além de outros hospedeiros como Pitaia (*Hylocereus undatus*) na Tailândia; cebola (*Allium cepa*) no sudoeste da Índia; jaca (*Artocarpus heterophyllus*), nêspera (*Eriobotrya japonica*), figueira (*Ficus carica*), hortelã (*Mentha* sp.), pimenta-preta (*Piper nigrum*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e cacau (*Theobroma cacao*) na Austrália; café, na Tailândia e pêssego (*Prunus persica*), na Carolina do Sul (MEETUM; LEKSOMBOON; KANJANAMANEESATHIAN, 2014; CHOWDAPPA; CHETHANA; PAVANI, 2015; JAMES et al., 2014; PRIHASTUTI et al., 2009; HU; GRABKE; SCHNABEL, 2015). No Brasil, a espécie foi relatada em goiaba (*Psidium guajava*), manga, abacate (*Persia americana*), pêssego, maçã (*Malus domestica*), caju (*Anacardium occidentale*) (BRAGANÇA, 2013), pinha (*Annona squamosa*) e graviola (*Annona muricata*) (COSTA, 2014). No estado de Minas Gerais foi isolada e identificada causando lesões necróticas em morango (CAPOBIANGO et al., 2016). E, mais recentemente, em *Capsicum* (SILVA, 2017) e *Nopalea cochenillifera* (OLIVEIRA et al., 2018).

Colletotrichum theobromicola foi descrito pela primeira vez em frutos de cacau por Rojas et al. (2010) e encontra-se distribuída em vários países como Israel, Austrália, México, Nova Zelândia, Panamá, Estados Unidos (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). A espécie foi relatada causando sintomas de antracnose em cafeeiro, no norte da Austrália, sendo a primeira identificação de *C. theobromicola* na cultura (JAMES et al., 2014). Também está associada à *Annona reticulata* na Tailândia e em folhas de graviola (*Annona muricata*) no Panamá (UDAYANGA et al., 2013; ROJAS et al., 2010). No Brasil foi identificada apenas em acerola (*Malpighia emarginata*) (BRAGANÇA, 2013).

No presente estudo foi possível identificar um isolado proveniente de *Anturium* do município de Atalaia e, quando identificado por filogenia e caracteres morfológicos, não foi possível atribuir a nenhuma espécie descrita de *Colletotrichum*. Por análise molecular as espécies mais próximas do isolado foram *C. brevisporum*, *C. sichuanensis*, *C. liaoningense* e *C. cliviae*, que são espécies conhecidas por não possuírem complexos. *C. brevisporum* foi relatado em *Neoregelia* sp. e em *Pandanus pygmaeus* na Tailândia, bem como em frutos de mamoeiro no Brasil e *Capsicum* na China (NOIREUNG et al., 2012; VIEIRA; NASCIMENTO; MICHEREFF, 2013; LIU et al., 2016). *C. sichuanensis* e *C. liaoningense* já foram relatados causando antracnose em *Capsicum*, na China (LIU et al., 2016; DIAO et al., 2017). Já *C. cliviae* foi identificada em *Clivia miniata*, *Capsicum* e Amaryllidaceae na China, além de relatos em soja no Brasil (LIU et al., 2016; YANG et al., 2009; BARBIERI et al., 2017).

Dados morfológicos de *C.tropicale* são descritos na literatura registrando conídios variando entre $12.5\text{--}16.5 \times 4.8\text{--}5.5\mu\text{m}$ e apressórios $7.0\text{--}11.0 \times 5.2\text{--}7.2\mu\text{m}$ (ROJAS et al., 2010). Silva et al. (2017) descreveram conídios para essa espécie apresentando dimensões entre $12.84\text{--}16.65 \times 4.44\text{--}6.36 \mu\text{m}$ e apressórios variando entre $6.79\text{--}9.68 \times 6.0\text{--}9.67\mu\text{m}$. Os isolados de flores tropicais para esta espécie apresentaram uma média de $16.95 \times 6.08\mu\text{m}$ para conídios e $9.50 \times 7.44\mu\text{m}$ para apressórios.

A espécie *C. siamense* apresentou uma média de $13.37 \times 5.55\mu\text{m}$ para conídios e $10.11 \times 7.53\mu\text{m}$ para apressórios. Os resultados obtidos no presente estudo foram semelhantes aos encontrados por Liu et al (2016), onde as dimensões para conídios e apressórios foram de $12\text{--}24 \times 3.8\text{--}7.3\mu\text{m}$ e $5.5\text{--}9.8 \times 4.8\text{--}7.7\mu\text{m}$, respectivamente. Já Silva et al. (2015) relataram medidas entre $13\text{--}18.39 \times 3.44\text{--}6.1\mu\text{m}$ para conídios e $9.12\text{--}16.49 \times 5.80\text{--}9.85\mu\text{m}$ para apressórios. Weir, Johnston e Damm (2012), mostraram que *C. siamense* e *C. tropicale* são espécies geneticamente semelhantes e compartilham uma série de características morfológicas.

Rojas et al. (2010), observaram que os conídios da espécie *C. theobromicola* em cacau apresentavam comprimento e largura de $16.0 \times 5.0\mu\text{m}$ e apressórios com $6.0\text{--}10.0 \mu\text{m} \times 5\text{--}6 \mu\text{m}$. No presente trabalho, esta espécie apresentou conídios com tamanho médio de $15.26 \times 4.42\mu\text{m}$ e apressórios com $9.31 \times 7.12\mu\text{m}$.

O isolado identificado como *Colletotrichum* sp. apresentou conídios com tamanho variando entre $13.1\text{--}28.2 \times 4.7\text{--}8.0\mu\text{m}$ e apressórios entre $12.7\text{--}19.8 \times 9.8\text{--}20.63\mu\text{m}$. Algumas espécies (*C. brevisporum*, *C. sichuanensis*, *C. cliviae* e *C. liaoningense*) que estão filogeneticamente próximas do isolado apresentam caracteres distintos. Liu et al. (2016) relataram medições de conídios entre $16.3\text{--}22.2 \times 4.2\text{--}6.3\mu\text{m}$ e apressórios entre $6.1\text{--}9.5 \times 5\text{--}7.9 \mu\text{m}$ para a espécie *C. brevisporum*. Vieira, Nascimento e Michereff (2013) observaram dimensões entre $10.5\text{--}17.1 \times 2.1\text{--}4.8\mu\text{m}$ para conídios e Noireung et al., 2012 descreveram apressórios com tamanhos entre $10\text{--}13 \times 8\text{--}11\mu\text{m}$ para esta espécie. A diferença entre características morfológicas dentro da mesma espécie pode ocorrer devido a variações nas condições de incubação ou variações dentro das espécies de *Colletotrichum*. Os conídios de *C. cliviae* relatado por Yang et al. (2009) apresentaram tamanhos entre $19.5\text{--}24.5 \times 4.5\text{--}7.0\mu\text{m}$ e apressórios entre $10.5\text{--}14.5 \times 6.0\text{--}11.0\mu\text{m}$. Zhou e Li (2017), na China, identificaram esta espécie em *Zamioculcas zamiifolia* com dimensões de conídios entre $16.5\text{--}20.5 \times 4.5\text{--}6.0\mu\text{m}$, apresentando as mesmas características observadas por Yang et al. (2009).

As espécies recentemente descritas, *C. sichuanensis* e *C. liaoningense*, apresentam poucos dados morfológicos. Conídios e apressórios de *C. sichuanensis* foram descritos

apresentando variações entre $15.0\text{--}18,9 \times 5.4\text{--}6.5\mu\text{m}$ e $8\text{--}14.2 \times 4.3\text{--}11.0\mu\text{m}$, respectivamente. Esta espécie apresenta formas de conídios semelhantes a *C. cliviae*, porém, *C. sichuanensis* apresenta conídios menores (LIU et al., 2016). Diao et al. (2017) descreveram a espécie *C. liaoningense* apresentando conídios com dimensões entre $14\text{--}18.5 \times 5\text{--}7.5\mu\text{m}$ e apressórios entre $3.5\text{--}5 \times 2.5\text{--}4.5\mu\text{m}$.

As mensurações do isolado *Colletotrichum* sp. foram diferentes de todas as espécies que estão filogeneticamente próximas a ele. O isolado apresentou os maiores valores para tamanhos de conídios e apressórios em relação às demais espécies já descritas. Os dados morfológicos corroboraram com as análises filogenéticas de Inferência Bayesiana e Máxima Verossimilhança.

Os resultados dos testes de patogenicidade cruzada demonstraram que uma mesma espécie de *Colletotrichum* foi capaz de infectar diferentes hospedeiros, evidenciando sua inespecificidade e ocorrência generalizada em vários hospedeiros (FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998; CANNON et al., 2012; LIMA et al., 2013). Diversos estudos comprovam a capacidade patogênica de diferentes espécies de *Colletotrichum* sobre uma gama de hospedeiros. Por exemplo, *C. gloeosporioides*, isolada de abacate e manga, foi patogênica a morango (*Fragaria vesca*), pimentão, goiaba e mamão (SANDERS; KORSTEN, 2003). A mesma espécie mostrou ser patogênica à frutos de durian (*Durio zibethinus*), abacate, manga, rambutão (*Nephelium lappaceum*), mangostão (*Garcinia mangostana*) e pini jambu (*Syzygium jambos*) (ALAHAKOON; BROWN; SREENIVASAPRASAD, 1994).

C. siamense e *C. tropicale* têm sido associadas a cultura do pimentão em estudos de infecção cruzada, com isolados obtidos de orquídeas na China e de manga no Brasil, respectivamente (YANG et al., 2011; LIMA et al., 2013).

Em estudos de patogenicidade cruzada com as espécies *C. asianum*, *C. cordylinicola*, *C. fructicola*, *C. siamense* e *C. simmondsii* nos hospedeiros pimenta, mamão, tangerina (*Citrus reticulata*), rose apple (*Eugenia javanica*), manga e goiaba, os autores confirmaram que espécies provenientes de um determinado hospedeiro tem preferência por seu hospedeiro original (PHOULIVONG; MCKENZIE; HYDE, 2012).

A identificação correta dos agentes etiológicos é essencial para aprimorar as técnicas de manejo de doenças. Este trabalho confirma a necessidade de mais estudos em relação a etiologia da antracnose em flores tropicais, bem como uma amostragem geográfica maior a fim de verificar a diversidade de espécies associadas à doença.

6 CONCLUSÃO

Quatro espécies do complexo *C. gloeosporioides* estão associadas à antracnose em flores tropicais no estado de Alagoas;

A espécie *C. siamense* foi a mais frequente causando antracnose em *Heliconia* spp.;

Uma possível nova espécie (*Colletotrichum* sp.), que não pertence a nenhum complexo já descrito, está associado à flores tropicais no estado de Alagoas;

Os isolados de *Colletotrichum* obtidos mostraram inespecificidade em relação ao hospedeiro.

7 REFERÊNCIAS

- ALAHAKOON, P.W., BROWN, A.E., SREENIVASAPRASAD, S. Genetic characterisation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates obtained from mango. **International Journal of Pest Managem.**, v. 40, p. 225-229, 1994.
- ALMEIDA, I.M.G.; MALAVOLTA JUNIOR, V.A.; IMEMES, S.L. (Eds.). **Problemas Fitossanitários em Plantas Ornamentais**. Instituto Biológico de Campinas, Campinas, 1997.
- ALMEIDA, G. T. et al. Antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em inflorescências de *Calathea burlemax* cv. Green no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. S326, 2006.
- ÁLVAREZ, E. et al. Caracterización morfológica, patogénica y genética del agente causal de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) em guanábana (*Annona muricata*) en el Valle del Cauca. **Fitopatologia Colombiana**, Cali, v. 28, p. 1-8, 2004.
- BARBIERI, M.C.G. et al. First report of *Colletotrichum cliviae* causing anthracnose on soybean in Brazil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 101, n. 9, p. 1677, 2017.
- BARGUIL, B. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; COELHO, R. S. B. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Heliconia chartacea* cv. Sex Pink. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. S136, 2005.
- BARGUIL, B. M. et al. Identificação e variabilidade genética de *Colletotrichum* causando antracnose em inflorescências de plantas ornamentais tropicais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6, p. 1639-1646, 2009.
- BERRY, F.; KRESS, W.J. **Heliconia: an identification guide**. 1. ed. Washington: Smithsonian Institution Press. 1991. 334 p.
- BEZERRA, F.C.; LOGES, V. Zingibereaceae. IN: TERAPO, D.; CARVALHO, A. C.P.P.; BARROSO, T.C.S.F. (Eds.). **Flores tropicais**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. p. 225.
- BONETT, L. P. et al. Caracterização morfocultural e infecção cruzada de *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da antracnose de frutos e hortaliças em pós-colheita. **Ambiência**, Guarapuava, v. 6, n. 3, p. 451-463, 2010.
- BRAGANÇA, C. A. D. **Molecular characterization of *Colletotrichum* spp. associated with fruits in Brazil**. 2013. Tese (Doutorado em Patologia de Plantas) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2013.
- CANNON, P. F.; BUDDIE, A. G.; BRIDGE, P. D. The typification of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 104, p. 189-204, 2008.
- CANNON, P.F. et al. *Colletotrichum*- current status and future directions. **Studies in Mycology**, Utrecht, v.73, p. 181-213, 2012.
- CAPOBIANGO, N.P. et al. Anthracnose on strawberry fruits caused by *Colletotrichum siamense* in Brazil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 100, n. 4, p. 859, 2016.
- CARBONE, I. KOHN, L.M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **Mycologia**, New York, v. 91, p. 553-556, 1999.
- CASTRO, C.E.F. **Heliconia para exportação: Aspectos Técnicos da Produção**. Brasília. MAARA-SDR-FRUPLEX/ISPI. 1995, 44p. (FRUPLEX. Publicações Técnicas, 16).
- CASTRO, C.E.F. **Aspectos técnicos da produção de helicônias para exportação**. Disponível em: <<http://jardimdeflores.com.br>>. Acesso em: 27 Maio, 2006.
- CHOWDAPPA, P.; CHETHANA, C.S.; PAVANI, K.V. *Colletotrichum siamense* and *C. truncatum* are responsible for severe outbreaks of anthracnose on onion in Southwest India. **Journal of Plant Pathology**, Italy, v. 97, n. 1, 2015.

COELHO, R.S.B.; WARUMBY, J.F. Doenças e pragas de plantas ornamentais detectadas na Zona da Mata de Pernambuco. Floricultura em Pernambuco. Série Agronegócio, SEBRAE-PE. 2002. pp.67-69.

COLATTO, U. L. D. **Reação de progênies de maracujazeiro azedo à antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), à verrugose (*Cladosporium herbarum*) e à bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*)**. 2010, 97f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2010.

COSTA, J. F. de O. **Caracterização e epidemiologia comparativa de espécies de *Colletotrichum* em anonáceas no estado de Alagoas**. 2014, 110f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas (CECA), Alagoas, 2014.

DAMM, U. et al. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 73, p. 1-36, 2012a.

DAMM, U. et al. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v.73, p. 37–113, 2012b.

DAMM, U. et al. The *Colletotrichum orbiculare* species complex: Important pathogens of field crops and weeds. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 61, p. 29–59, 2013.

DETTMAN, J.R.; JACOBSON, D.J.; TAYLOR, J.W. A multilocus genealogical approach to phylogenetic species recognition in the model eukaryote *Neurospora*. **Evolution**, v. 57, p. 2703–2720, 2003.

DIAO, Y.Z. et al. *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of chili in China. **Persoonia**, Utrecht, v. 38, p.20-37, 2017.

DOYLE J.J.; DOYLE J.L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, Californy, v. 19, p. 11-15, 1987.

DOYLE, V. P. et al. Habitat and Host Indicate Lineage Identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. from Wild and Agricultural Landscapes in North America. **Plos One**, San Francisco, v. 5, n. 8, 2013.

Enciclopédia Agrícola Brasileira/ESALQ. Apresentação de Humberto de Campos. São Paulo: Edusp, 1995.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, St. Paul, v. 82, p. 596-605, 1998.

FREIRE, F.C. O.; CARDOSO, J. E. **Doenças das anonáceas**. In: JOSÉ, A. R.; VILAS BOAS, I.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (eds.). Anonáceas: produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimóia). Vitória da conquista: Universidade Estadual do Sudeste da Bahia, 1997. p. 196-213.

FREIRE, F. C. O.; COSTA, A. K. F.; VIANA, F. M. P. Patógenos associados a flores e plantas ornamentais no Estado do Ceará (Brasil). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. S209, 2003.

FURTADO, D.C.M. et al. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Tapeinochilus ananassae* no estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 4, p. 343, 2012.

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

HILLIS, D.M.; BULL, J.J. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. **Systematic Biology**, Oxford, v. 42, p. 182-192, 1993.

HO, W.C.; KO, W.H. A simples method for obtaining single-spore isolates of fungi. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v.38, p. 41-44, 1997.

HU, M.; GRABKE, A.; SCHNABEL, G. Investigation of the *Colletotrichum gloeosporioides* species complex causing peach anthracnose in South Carolina. **Plant Disease**, St. Paul, v. 99, p. 797-805, 2015.

- IBRAFLO. **Instituto Brasileiro de Floricultura**. Disponível em: <<http://www.ibraflor.com.br>> Acesso em: 01 de março de 2018.
- IVEY, M. L. L.; NAVA-DIAZ, C.; MILLER, S. A. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature bell peppers. **Plant Disease**, St. Paul, v. 88, n. 11, p. 1198-1204, 2004.
- JAMES, R.S. et al. *Colletotrichum siamense*, *C. theobromicola* and *C. queenslandicum* from several plant species and the identification of *C. asianum* in the Northern Territory. **Australasian Plant Disease**, Australia, v. 9, p. 138, 2014.
- JAYAWARDENA, R.S. et al. Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. **Mycosphere**, Guiyang, v. 7, n.8, p. 1192-1260, 2016.
- JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socioeconômica recente. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.14, n.1, p. 37-52, 2008.
- JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014.
- KIRK, P. M. et al. **Dictionary of the fungi**. 10 ed. Wallingford: CABI Europe – UK, 2008.
- LAMAS, A. M. Flores: produção, pós-colheita e mercado. Fortaleza: Instituto Frutal, 2004. 109p.
- LIMA, N.B. et al. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 61, p.75-88, 2013.
- LINS, S.R.O.; COELHO, R.S.B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, 2004.
- LIU, F. et al. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. **Nature**, United Kingdom, v. 6, p. 32761, 2016.
- LOGES, V.; TEIXEIRA, M. do C. F.; CASTRO, A.C. R. Harvest and postharvest of tropical flowers in Pernambuco State. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 699-702, 2005.
- MADRIZ, R.; SMITS, G.; NOGUERA, R. Principales hongos patógenos que afectan algunas especies ornamentales del género *Heliconia*. **Agronomia Tropical**, Maracay, v. 41, p. 265-274, 1991.
- MARTINS, M.V.M. et al. Produção integrada de flores no Brasil. Informe Agropecuário, v.30, p. 64-66, 2009.
- MEETUM, P.; LEKSOMBOON, C.; KANJANAMANEESATHIAN, M., First report of *Colletotrichum aenigma* and *C. siamense*, the causal agent of anthracnose disease of dragon fruit in Thailand. **Journal of plant pathology**, Italy, v. 97, p. 391-403, 2015.
- MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 3, p.170-179, 2006.
- MILLS, P. R.; SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A.E. Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates using PCR. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 98, p.137-143, 1992.
- MOSCA, J.L.; CAVALCANTE, R.A. Heliconiaceae. IN: TERAIO, D.; CARVALHO, A. C.P.P.de.; BARROSO, T.C. da S.F. (Eds.). **Flores tropicais**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. p.225.
- NOIREUNG, P. et al. Novel species of *Colletotrichum* revealed by morphology and molecular analysis. **Mycology**, New York, v. 33, n. 3, 2012.

- O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Illinois, v.7, p. 103–116, 1997.
- OLIVEIRA, L.F.M. et al. Identification of *Colletotrichum* species associated with brown spot of cactus prickly pear in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, p. 1-7, 2018.
- PEIXINHO, G.S. **Avaliação dos efeitos de indutores de resistência no controle de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) em inflorescências de bastão do imperador (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Smith)**. 2009, 41f. TCC – Universidade Federal de Alagoas (CECA), Alagoas, 2009.
- PENG, L. et al. *Colletotrichum* species on citrus leaves in Guizhou and Yunnan provinces, China. **Cryptogamie Mycologie**, Paris, v.33, p. 267-283, 2012.
- PEREIRA, M.J.Z. **Reação de acessos *Capsicum* spp. a *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose das solanáceas**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) –Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2005.
- POSADA, D.; BUCKLEY, T. Model Selection and Model Averaging in Phylogenetics: Advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian Approaches Over Likelihood Ratio Tests. **Systematic Biology**, Oxford, v. 53, p. 793–808, 2004.
- PHOULIVONG, S. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 44, p. 33–43, 2010.
- PHOULIVONG, S.; MCKENZIE, E.H.C.; HYDE, K.D. Cross infection of *Colletotrichum* species; a case study with tropical fruits. **Current Research in Environmental & Applied Mycology**, Pequin, v. 2, n. 2, p.99–111. Dec., 2012.
- PITTA, G. P. B.; CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, R. M. G. **Doenças das plantas ornamentais**. São Paulo: Instituto Brasileiro do Livro Científico, 1990. 174 p.
- PITTA, G.P.B. Flores e plantas ornamentais para exportação: aspectos fitossanitários. Brasília: Embrapa SP, 1995. 50 p. (Publicações Técnicas FRUPEX, 17).
- PRIHASTUTI, H. et al. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, p. 89-109, 2009.
- PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os Reinos dos Fungos**. 2. ed. Santa Cruz do Sul: Edunisc. 491 p., 2002.
- RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. **Journal of Molecular Evolution**, v.43, p. 304-311, 1996.
- ROJAS, E. I. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. **Mycology**, New York, v. 102, p. 1318–1338, 2010.
- ROBERTS, P. D.; PERNEZNY, K. L.; KUCHARÉK, T. A. **Anthraxose on pepper in Florida**. Electronic Data Information Source - Florida Cooperative Extension Publications: Universidade da Flórida, Gainesville, 2012.
- RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, Oxford, v.19, p. 1572–1574, 2003.
- SARDINHA, D. H. S. et al. Fungos e nematóides fitopatogênicos associados ao cultivo de flores tropicais em São Luís – MA. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 38, n. 2, p. 159-162, 2012.
- SANDERS, G. M; KORSTEN, L. Comparison of cross inoculation potential of South African avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Microbiological Research**, v. 158, p.143–150, 2003.

- SERRA, I. M. R. de S.; SILVA, G. S. da. Caracterização Morfofisiológica de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* Agentes de Antracnose em Frutíferas no Maranhão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, n. 4, p. 475-480, 2004.
- SHARMA, G. et al. The ApMat marker can resolve *Colletotrichum* species: a case study with *Mangifera indica*. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 61, n. 1, p. 117-138, 2013.
- SHARMA, G.; PINNAKA, A.K.; SHENOY, B. D. ITS-based diversity of *Colletotrichum* from India. **Current Research in Environmental & Applied Mycology**, Pequin, v. 3, n. 2, p. 194–220, 2013.
- SHARMA, G.; SHENOY B. D. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, Goa, Índia. v. 47, n. 10, p. 1179-1194, 2014.
- SILVA, M. R. L. et al. **Estudo da agressividade de *Colletotrichum gloeosporioides* proveniente de frutos e flores de caféiro**. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 7. 2011, Araxá. Articulação em Redes de Pesquisa e Novas Fronteiras do Conhecimento. Disponível em: <<http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/10820/4016/230.pdf?sequence=2>>. Acesso em: 15 ago. 2014.
- SILVA, C. G. et al. Fitossanidade em plantas tropicais no estado de mato grosso, enciclopédia biosfera. **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 11, n. 22, p. 1290, 2015.
- SILVA, J.R.A. **Caracterização molecular e morfocultural de *Colletotrichum* spp. associadas à antracnose em *Capsicum* spp. no nordeste do Brasil**. 2015, 60f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas (CECA), Alagoas, 2015.
- SILVA, J.R.A. et al. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 42, n. 4, p. 315-319, 2017.
- SOLOGUREN, F.J.; JULIATTI, F.C. Doenças fúngicas em plantas ornamentais em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 42-52, 2007.
- SUTTON, B.C. (Ed). **The Coelomycetes**. Fungi imperfecti with pycnidia acervuli and stromata. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696 p.
- SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. (Eds.). *Colletotrichum – Biology, Pathology and Control*. Wallingford. CAB International, 1992. p. 1-26.
- TAMURA, K. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, p. 2725–2729, 2013.
- TEMPLETON, M.D. et al. Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. *Gene* 122: 225–230, 1992.
- THOMPSON, J.D. et al. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 25, p. 4876-4882, 1997.
- TOMBOLATO, A.F.C.; CASTRO, A.C.R. Araceae. IN: TERAPO, D.; CARVALHO, A. C.P.P.; BARROSO, T.C.S.F. (Eds.). **Flores tropicais**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. p. 225.
- UDAYANGA, D. et al. What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 61, p. 165-179, 2013.
- VIEIRA, W. A. S.; NASCIMENTO, R. J.; MICHEREFF, S. J. First report of papaya fruit anthracnose caused by *Colletotrichum brevisporum* in Brazil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 97, n. 12, p. 1659, 2013.

WARUMBY, J. F.; COELHO, R. S. B.; LINS, S. R. O. **Principais doenças e pragas em flores tropicais no estado de Pernambuco**. Recife: Sebrae, 2004. 98 p.

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

WHITE, T.J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ eds). New York: Academic Press, 1990, p. 315–322.

WOOD, T. Ornamental Zingiberaceae. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.1, n.1, p. 12-3, 1995.

YANG, Y. L. et al. *Colletotrichum* anthracnose of Amaryllidaceae. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, p. 123-146, 2009.

YANG, Y. L. et al. *Colletotrichum* Species on Orchidaceae in Southwest China. **Mycology**, New York, v. 32, n. 3, p. 229-253, 2011.

YOUNG, N.D.; HEALY, J. GapCoder automates the use of indel characters in phylogenetic analysis. **BMC Bioinformatics**, United Kingdom, v. 4, p. 6, 2003.

ZHOU, Z.; LI, Y.Z. First report of *Colletotrichum cliviae* causing anthracnose on *Zamioculcas zamiifolia* in Henan Province, China. **Plant Disease**, St. Paul, v. 101, n. 5, p. 838, 2017.

Tabela 1. Sequências dos isolados de *Colletotrichum* utilizados neste estudo incluindo hospedeiro, local e código do GenBank

Espécie	Coleção	Hospedeiro	Origem geográfica	Número de acesso do GENBANK						
				ITS	GAPDH	CAL	ACT	CHS-1	SOD2	TUB2
<i>Colletotrichum aenigma</i>	ICMP 18608*	<i>Persea americana</i>	Israel	JX010244	JX010044	JX009683	JX009443	JX009774	JX010311	JX010389
	ICMP 18686	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Japão	JX010243	JX009913	JX009684	JX009519	JX009789	JX010312	JX010390
<i>C. alatae</i>	CBS 304.67*, ICMP 17919	<i>Dioscorea alata</i>	Índia	JX010190	JX009990	JX009738	JX009471	JX009837	JX010305	JX010383
	ICMP 18122	<i>Dioscorea alata</i>	Nigéria	JX010191	JX010011	JX009739	JX009470	JX009846	JX010371	JX010449
<i>C. alienum</i>	IMI 313842, ICMP 18691	<i>Persea americana</i>	Austrália	JX010217	JX010018	JX009664	JX009580	JX009754	JX010307	JX010385
	ICMP 12071*	<i>Malus domestica</i>	Nova Zelândia	JX010251	JX010028	JX009654	JX009572	JX009882	JX010333	JX010411
<i>C. annellatum</i>	CBS 129826, CHI*	<i>Hevea brasiliensis</i> , leaf	Colômbia	JQ005222	JQ005309	JQ005743	JQ005570	JQ005396	–	JQ005656
<i>C. aotearoa</i>	ICMP 18532	<i>Vitis lucens</i>	Nova Zelândia	JX010220	JX009906	JX009614	JX009544	JX009764	JX010338	JX010421
	ICMP 18537*	<i>Coprosma</i> sp.	Nova Zelândia	JX010205	JX010005	JX009611	JX009564	JX009853	JX010345	JX010420
<i>C. arxii</i>	CBS 169.59, IMI 304050, IMI 309371	<i>Oncidium excavatum</i>	Países Baixos	KF687717	KF687824	–	KF687784	KF687781	–	KF687868
	CBS 132511, Paphi 2-1*	<i>Paphiopedilum</i> sp.	Alemanha	KF687716	KF687843	KF687819	KF687802	KF687780	–	KF687881
<i>C. asianum</i>	IMI 313839, ICMP 18696	<i>Mangifera indica</i>	Austrália	JX010192	JX009915	JX009723	JX009576	JX009753	JX010306	JX010384
	ICMP 18580*, CBS 130418	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	FJ972612	JX010053	FJ917506	JX009584	JX009867	JX010328	JX010406
<i>C. boninense</i>	MAFF 305972*, ICMP 17904, CBS 123755	<i>Crinum asiaticum</i> var. <i>sinicum</i>	Japão	JQ005153	JQ005240	JQ005674	JQ005501	JQ005327	–	JQ005588
	CBS 123756, MAFF 306094	<i>Crinum asiaticum</i> var. <i>sinicum</i>	Japão	JQ005154	JQ005241	JQ005675	JQ005502	JQ005328	–	JQ005589
<i>C. brevisporum</i>	BCC 38876*	<i>Neoregelia</i> sp.	Tailândia	JN050238	JN050227	JN050222	JN050216	–	–	JN050244
	COUFAL7300	<i>Sechium edule</i>	Brasil	KT285382	KT285381	KT285379	KT285378	KT285380	–	KT285383
<i>C. clidemiae</i>	ICMP 18706	<i>Vitis</i> sp.	EUA	JX010274	JX009909	JX009639	JX009476	JX009777	JX010353	JX010439
	ICMP 18658*	<i>Clidemia hirta</i>	EUA, Havaí	JX010265	JX009989	JX009645	JX009537	JX009877	JX010356	JX010438
<i>C. cliviae</i>	CBS 125375*	<i>Clivia miniata</i>	China	JX519223	JX546611	–	JX519240	–	–	JX519223
	CORCX9	<i>Arundina graminifolia</i>	Jinghong, Yunnan	HM585398	HM585381	HM582008	HM581986	HM582025	–	HM585423
	CORCG2	<i>Cymbidium hookerianum</i>	Guiyang, Guizhou	HM585397	HM585380	HM582007	HM581985	HM582024	–	HM585422
<i>C. dracaenophilum</i>	CBS 118199*	<i>Dracaena sanderana</i>	China	JX519222	JX546707	–	JX519238	JX519230	–	JX519247
<i>C. fructicola</i>	ICMP 18120	<i>Dioscorea alata</i>	Nigéria	JX010182	JX010041	JX009670	JX009436	JX009844	JX010323	JX010401
	CBS 125395, ICMP 18645	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	JX010172	JX009992	JX009666	JX009543	JX009873	JX010330	JX010408
	ICMP 18581*, CBS 130416	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	JX010165	JX010033	FJ917508	FJ907426	JX009866	JX010327	JX010405

	ICMP 18727	<i>Fragaria x ananassa</i>	EUA	JX010179	JX010035	JX009682	JX009565	JX009812	JX010316	JX010394
<i>C. gigasporum</i>	CBS 125387, 4801	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	KF687733	KF687834	KF687812	KF687788	KF687765	–	KF687873
	CBS 133266, MUCL 44947*	<i>Cantella asiatica</i>	Madagáscar	KF687715	KF687822	–	–	KF687761	–	KF687866
<i>C. gloeosporioides</i>	IMI 356878*, ICMP 17821, CBS 112999	<i>Citrus sinensis</i>	Itália	JX010152	JX010056	JX009731	JX009531	JX009818	JX010365	JX010445
<i>C. horii</i>	NBRC 7478*, ICMP 10492	<i>Diospyros kaki</i>	Japão	GQ329690	GQ329681	JX009604	JX009438	JX009752	JX010370	JX010450
	ICMP 17968	<i>Diospyros kaki</i>	China	JX010212	GQ329682	JX009605	JX009547	JX009811	JX010300	JX010378
<i>C. kahawae</i> subsp. <i>ciggaro</i>	ICMP 18539*	<i>Olea europaea</i>	Austrália	JX010230	JX009966	JX009635	JX009523	JX009800	JX010346	JX010434
	ICMP 18534	<i>Kunzea ericoides</i>	Nova Zelândia	JX010227	JX009904	JX009634	JX009473	JX009765	JX010351	JX010427
<i>C. kahawae</i> subsp. <i>Kahawae</i>	CBS 982.69, ICMP 17915	<i>Coffea arabica</i>	Angola	JX010234	JX010040	JX009638	JX009474	JX009829	JX010352	JX010435
	IMI 319418*, ICMP 17816	<i>Coffea arabica</i>	Quênia	JX010231	JX010012	JX009642	JX009452	JX009813	JX010350	JX010444
<i>C. karstii</i>	CBS 129927	<i>Anthurium</i> sp.	Tailândia	JQ005206	JQ005293	JQ005727	JQ005554	JQ005380	–	JQ005640
	CBS 129833	<i>Musa</i> sp.	México	JQ005175	JQ005262	JQ005696	JQ005523	JQ005349	–	JQ005609
	CBS 129834	<i>Musa</i> sp.	México	JQ005176	JQ005263	JQ005697	JQ005524	JQ005350	–	JQ005610
<i>C. liaoningense</i>	CAUOS2*	<i>Capsicum</i> sp.	China	KP890104	KP890135	KP890119	KP890097	KP890127	–	KP890111
	CAUOS3	<i>Capsicum</i> sp.	China	KP890105	KP890136	KP890120	KP890098	KP890128	–	KP890112
<i>C. magnisporum</i>	CBS 398.84*	Desconhecido	Desconhecido	KF687718	KF687842	–	KF687803	KF687782	–	KF687882
<i>C. musae</i>	IMI 52264, ICMP 17817	<i>Musa sapientum</i>	Quênia	JX010142	JX010015	JX009689	JX009432	JX009815	JX010317	JX010395
	CBS 116870*, ICMP 19119	<i>Musa</i> sp.	EUA	JX010146	JX010050	JX009742	JX009433	JX009896	JX010335	HQ596280
<i>C. petchii</i>	CBS 378.94*	<i>Dracaena marginata</i> , spotted leaves	Itália	JQ005223	JQ005310	JQ005744	JQ005571	JQ005397	–	JQ005657
	CBS 379.94	<i>Dracaena marginata</i> , spotted leaves	Itália	JQ005224	JQ005311	JQ005745	JQ005572	JQ005398	–	JQ005658
<i>C. phyllanthi</i>	CBS 175.67, MACS 271*	<i>Phyllanthus acidus</i> , anthracnose	Índia	JQ005221	JQ005308	JQ005742	JQ005569	JQ005395	–	JQ005655
<i>C. pseudomajus</i>	CBS 571.88*	<i>Camellia sinensis</i>	Taiwan	KF687722	KF687826	KF687807	KF687801	KF687779	–	KF687883
<i>C. queenslandicum</i>	ICMP 1778*	<i>Carica papaya</i>	Austrália	JX010276	JX009934	JX009691	JX009447	JX009899	JX010336	JX010414
	ICMP 18705	<i>Coffea</i> sp.	Fiji	JX010185	JX010036	JX009694	JX009490	JX009890	JX010334	JX010412
<i>C. radialis</i>	CBS 529.93*	Desconhecido	Costa Rica	KF687719	KF687825	KF687806	KF687785	KF687762	–	KF687869
<i>C. siamense</i>	ICMP 12567	<i>Persea americana</i>	Austrália	JX010250	JX009940	JX009697	JX009541	JX009761	JX010309	JX010387
	DAR 76934, ICMP 18574	<i>Pistacia vera</i>	Austrália	JX010270	JX010002	JX009707	JX009535	JX009798	JX010313	JX010391
	ICMP 18121	<i>Dioscorea rotundata</i>	Nigéria	JX010245	JX009942	JX009715	JX009460	JX009845	JX010324	JX010402

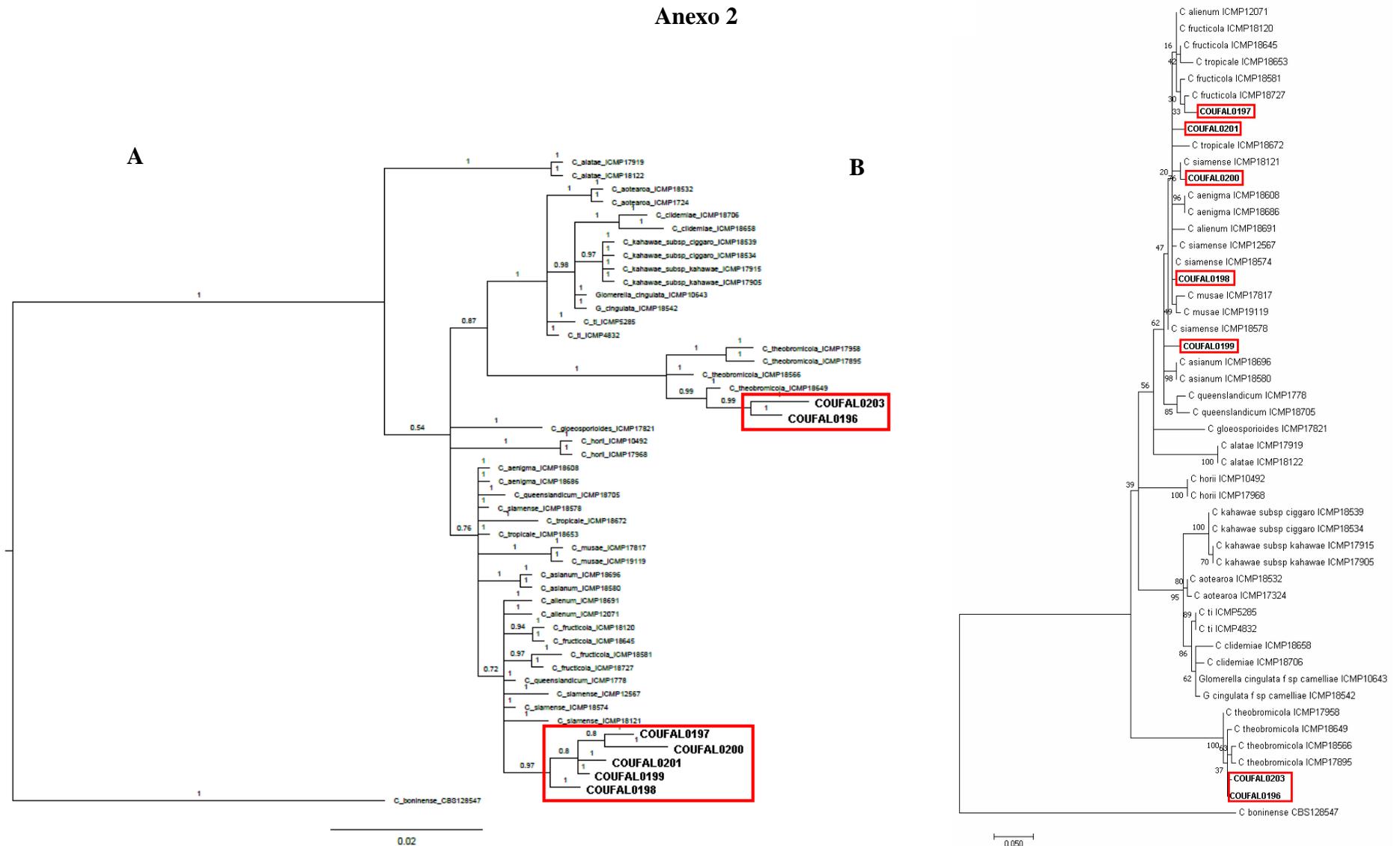
Fonte: CHAVES. 2018.

	ICMP 18578*, CBS 130471	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	JX010171	JX009924	FJ917505	FJ907423	JX009865	JX010326	JX010404
	COUFAL0201	<i>Alpinia purpurata</i>	Brasil	MH122793	MH122792	MH122790	MH122789	MH122791	–	–
	COUFAL0199	<i>Heliconia</i> spp.	Brasil	MH151142	MH151151	MH151137	MH151132	MH151147	–	–
	COUFAL0198	<i>Heliconia</i> spp.	Brasil	MH151141	MH151150	MH151136	MH151131	MH151146	–	–
	COUFAL0200	<i>Heliconia</i> spp.	Brasil	MH151143	MH151153	MH151138	MH151133	MH151148	–	–
<i>C. sichuanensis</i>	LJTJ3*	<i>Capsicum</i> sp.	China	KP748193	KP823773	KP823808	KP823738	–	–	KP823850
	LJTJ16	<i>Capsicum</i> sp.	China	KP748207	KP823786	KP823809	KP823739	–	–	KP823851
<i>C. theobromicola</i>	MUCL 42295, ICMP 17958, CBS 124250	<i>Stylosanthes guianensis</i>	Austrália	JX010291	JX009948	JX009598	JX009498	JX009822	JX010303	JX010381
	ICMP 18566	<i>Olea europaea</i>	Austrália	JX010282	JX009953	JX009593	JX009496	JX009801	JX010297	JX010376
	ICMP 17895	<i>Annona diversifolia</i>	México	JX010284	JX010057	JX009600	JX009568	JX009828	JX010304	JX010382
	CBS 124945*, ICMP 18649	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	JX010294	JX010006	JX009591	JX009444	JX009869	JX010372	JX010447
	COUFAL0196	<i>Heliconia</i> spp.	Brasil	MH151140	MH151152	MH151135	MH151130	MH151144	–	–
	COUFAL0203	<i>Anthurium</i> spp.	Brasil	MH155178	MH155179	MH155176	MH155175	MH155177	–	–
<i>C. ti</i>	ICMP 5285	<i>Cordyline australis</i>	Nova Zelândia	JX010267	JX009910	JX009650	JX009553	JX009897	JX010363	JX010441
	ICMP 4832*	<i>Cordyline</i> sp.	Nova Zelândia	JX010269	JX009952	JX009649	JX009520	JX009898	JX010362	JX010442
<i>C. tropicale</i>	MAFF 239933, ICMP 18672	<i>Litchi chinensis</i>	Japão	JX010275	JX010020	JX009722	JX009480	JX009826	JX010318	JX010396
	CBS 124949*, ICMP 18653	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	JX010264	JX010007	JX009719	JX009489	JX009870	JX010329	JX010407
	COUFAL0197	<i>Heliconia</i> spp.	Brasil	MH151139	MH151149	MH151134	MH151129	MH151145	–	–
<i>C. vietnamense</i>	CBS125477, BMT25(L3)	<i>Coffea</i> sp.	Vietnã	KF687720	KF687831	KF687815	KF687791	KF687768	–	KF687876
	CBS 125478, LD16(L2)*	<i>Coffea</i> sp.	Vietnã	KF687721	KF687832	KF687816	KF687792	KF687769	–	KF687877
<i>C. yunnanense</i>	CBS 132135*	<i>Buxus</i> sp.	China	JX546804	JX519248	JX546706	JX519239	JX519231	–	–
<i>Glomerella cingulata</i> "f.sp. <i>camelliae</i> "	ICMP 10643	<i>Camellia x williamsii</i>	Reino Unido	JX010224	JX009908	JX009630	JX009540	JX009891	JX010358	JX010436
	ICMP 18542	<i>Camellia sasanqua</i>	EUA	JX010223	JX009994	JX009628	JX009488	JX009857	JX010357	JX010429

Os isolados obtidos neste estudo encontram-se destacados em negrito; (*) Isolados tipos ou ex-type das espécies de *Colletotrichum*.

Fonte: CHAVES, 2018.

Anexo 2



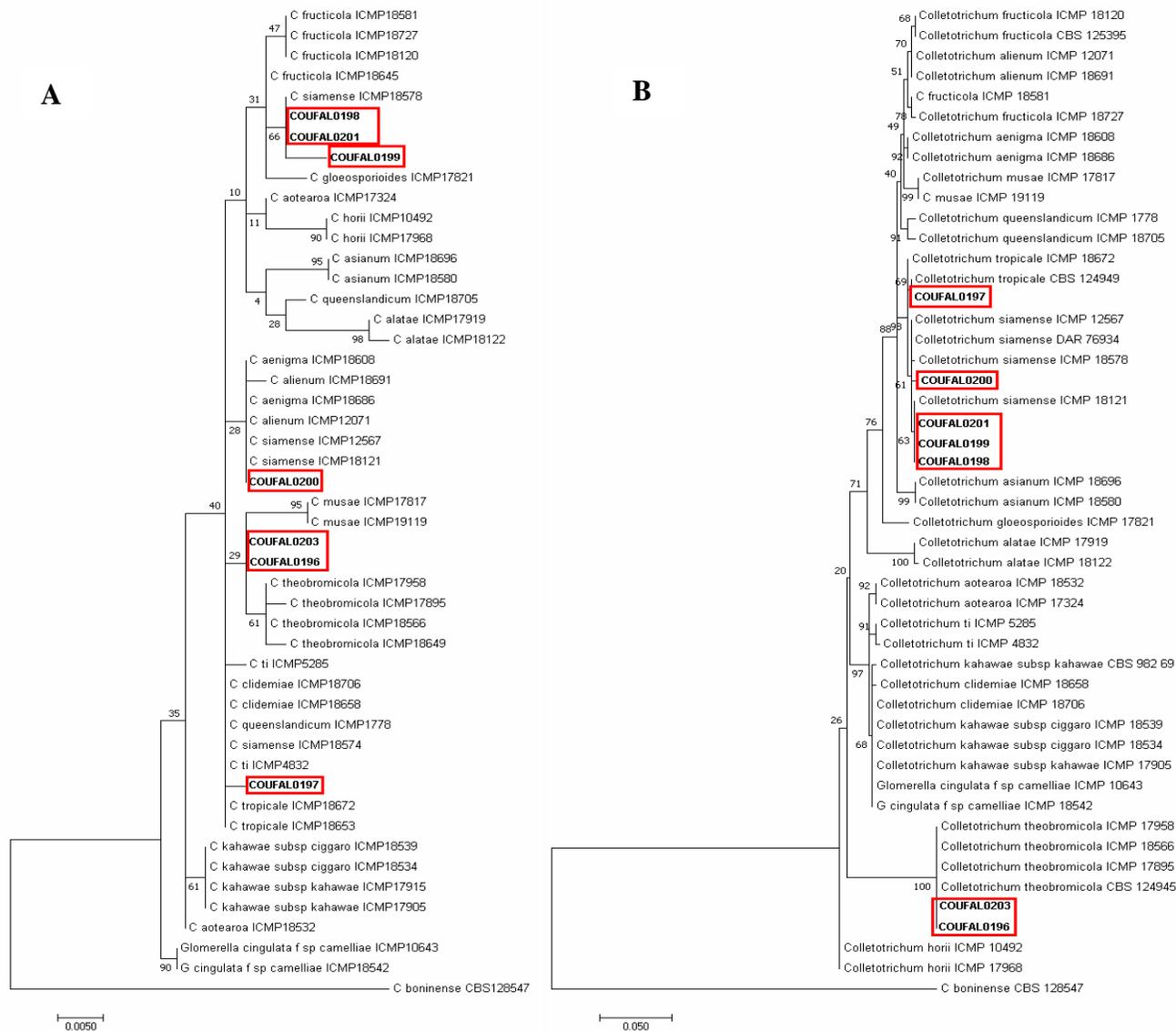


Figura 2. A: Árvore filogenética de Inferência Bayesiana para a região ITS-rDNA para *Colletotrichum gloeosporioides*; B: Árvore filogenética de Inferência Bayesiana para o gene CAL para *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte: CHAVES, 2018.

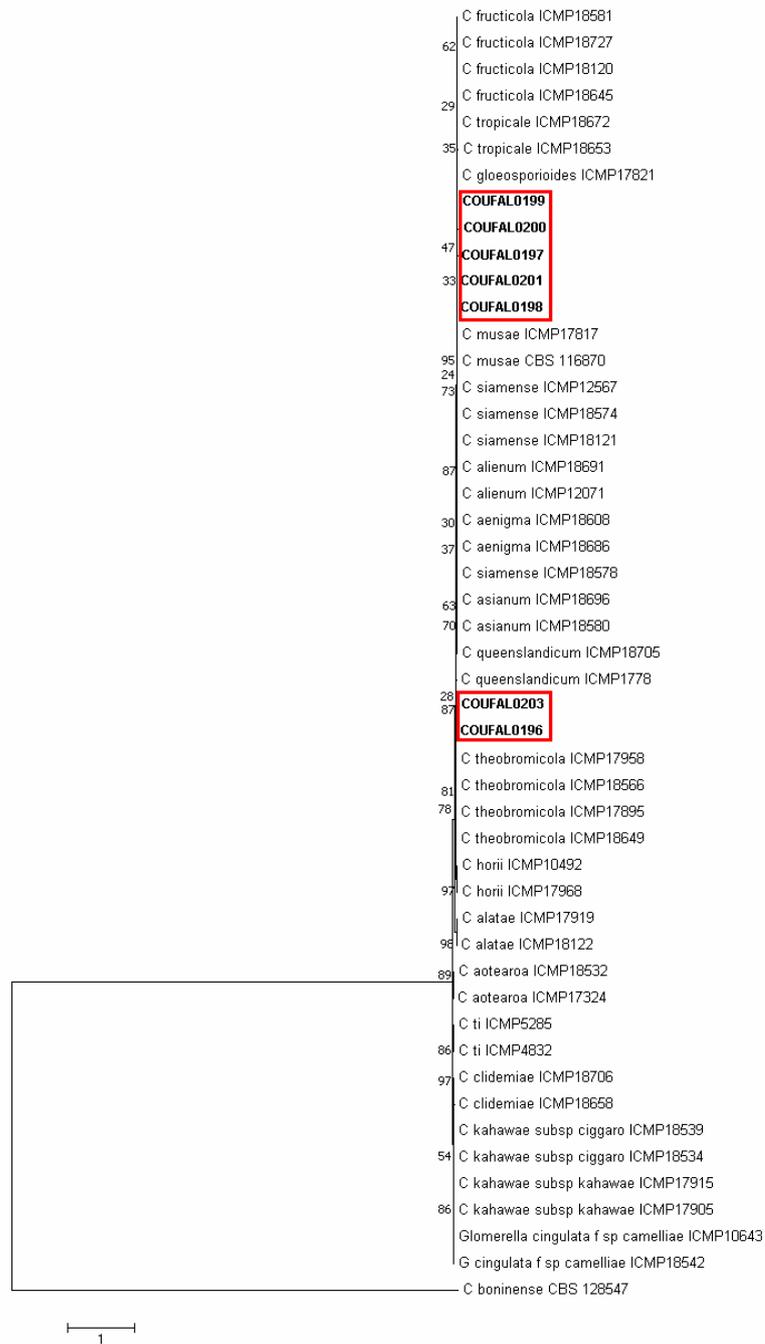


Figura 3. Árvore filogenética de Inferência Bayesiana para a região CHS-1 para *Colletotrichum gloeosporioides*.

Fonte: CHAVES, 2018.

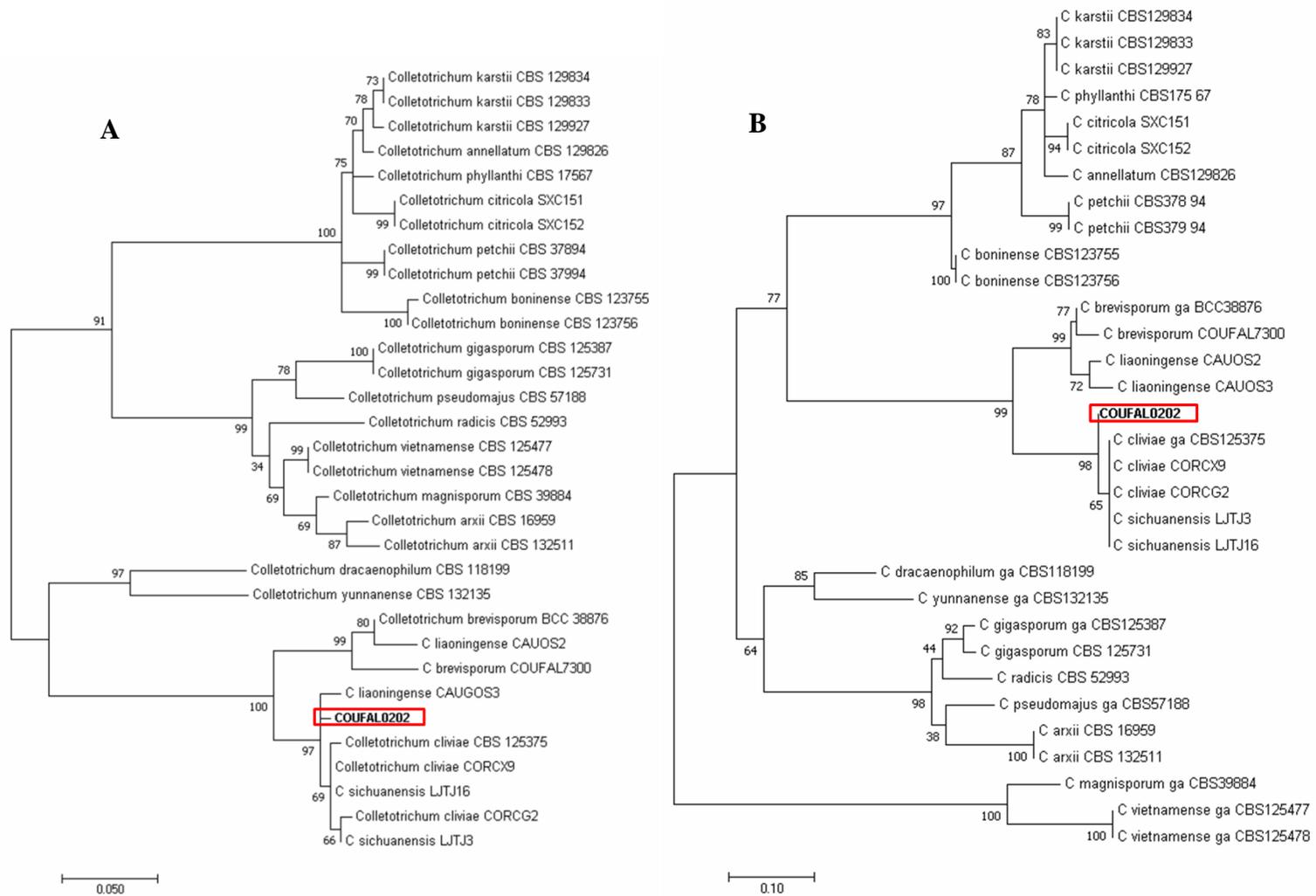


Figura 4. A: Árvore filogenética de Inferência Bayesiana para o gene ACT para *Colletotrichum* sp.; B: Árvore filogenética de Inferência Bayesiana para o gene GAPDH para *Colletotrichum* sp.

Fonte: CHAVES, 2018.

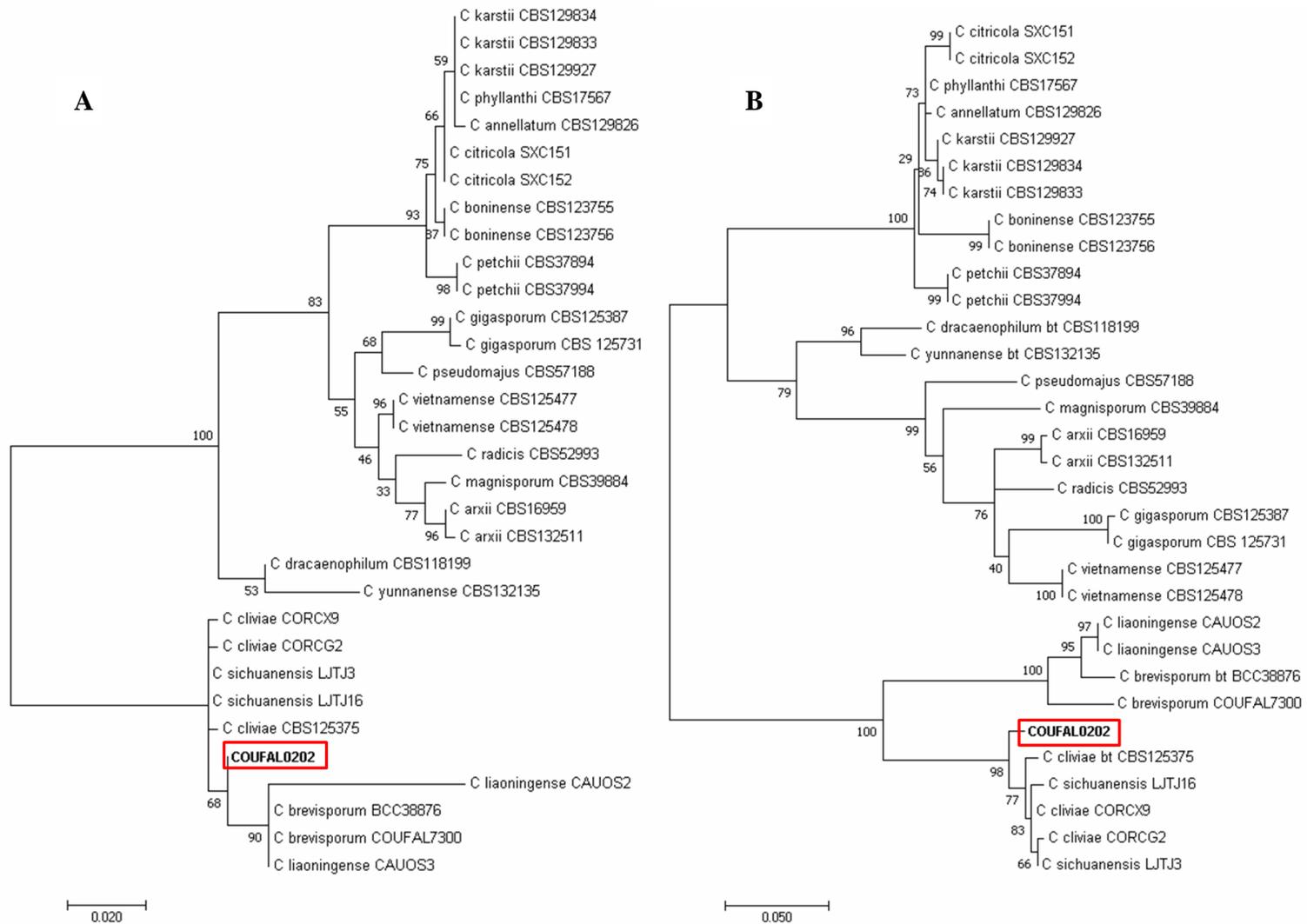


Figura 5. A: Árvore filogenética de Inferência Bayesiana para a região ITS-rDNA para *Colletotrichum* sp.; B: Árvore filogenética de Inferência Bayesiana para o gene TUB2 para *Colletotrichum* sp.
Fonte: CHAVES, 2018.

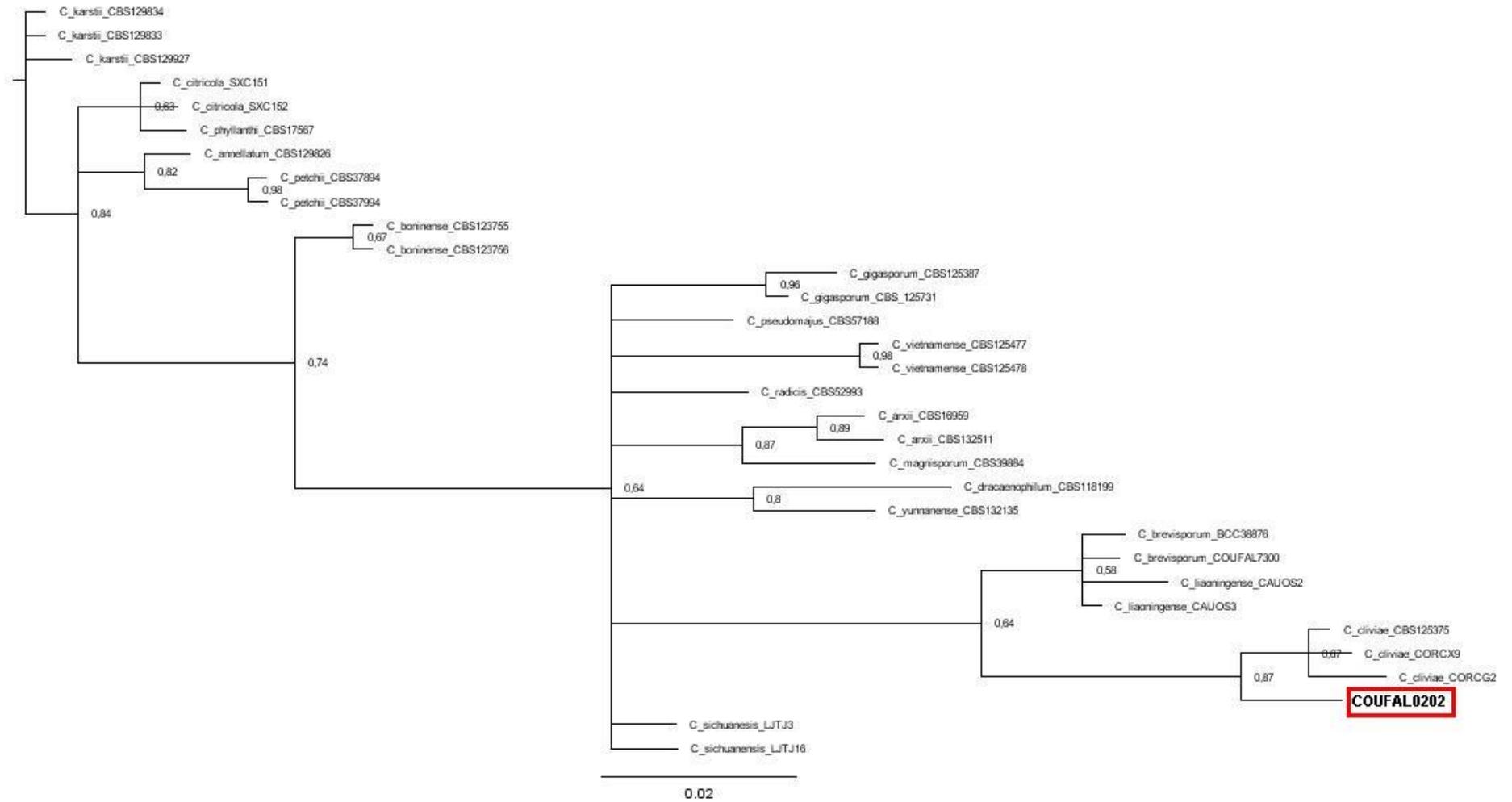


Figura 6. Árvore filogenética de Inferência Bayesiana para o gene CHS-1 para *Colletotrichum* sp.
Fonte: CHAVES, 2018.