



**UNIVERSIDADE FEDERAL
RURAL DE PERNAMBUCO**
*PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-
GRADUAÇÃO*



**PROGRAMA DE PÓS
GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

**Caracterização molecular de isolados de *Colletotrichum*
associados a de hortaliças do gênero *Solanum* no Brasil**

Athaise Ferreira de Lima

**Recife – PE
2024**

ATHAISE FERREIRA DE LIMA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DE *Colletotrichum*
ASSOCIADOS A HORTALIÇAS DO GÊNERO *Solanum* NO BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Ailton Reis

Orientadores: Leonardo Silva Boiteux e Marcos Paz Saraiva Câmara

**RECIFE-PE
Setembro - 2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Bibliotecário(a): Suely Manzi – CRB-4 809

L732c Lima, Athaise Ferreira de.
Caracterização molecular de isolados de
Colletotrichum associados a hortaliças do gênero
Solanum no Brasil / Athaise Ferreira de Lima. –
Recife, 2024.
72 f.

Orientador(a): Ailton Reis.

Co-orientador(a): Leonardo Silva Boiteux.

Co-orientador(a): Marcos Paz Saraiva Câmara.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural
de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em
Fitopatologia, Recife, BR-PE, 2024.

Inclui referências.

1. Hortaliças - Doenças e pragas. 2. Fungos . 3.
Fitopatologia. 4. Antracnose I. Reis, Ailton, orient.
II. Boiteux, Leonardo Silva, coorient. III. Câmara,
Marcos Paz Saraiva, coorient. IV. Título

CDD 632

**CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* DE HORTALIÇAS DO
GÊNERO *Solanum***

ATHAISE FERREIRA DE LIMA

Tese Defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 30/09/2024

ORIENTADOR: AILTON REIS

EXAMINADORES:

ALEXANDRE REIS MACHADO - UFPE

SAMI JORGE MICHEREFF - UFCA

MARUZANETE PEREIRA DE MELO- UFPI

WILLIE ANDERSON DOS SANTOS VIEIRA- UnB

**RECIFE-PE
Setembro - 2024**

A Ciência e aos cientistas do Brasil...
DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Criador pela vida, força e coragem;

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos a CNPq e FACEPE;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia (PPGF) e aos funcionários da Embrapa Hortaliças por todo conhecimento compartilhado;

Ao Dr. Ailton Reis pela orientação e ensinamentos, pela elucidação de dúvidas por todo o suporte e confiança, principalmente pela paciência;

Aos meus orientadores Leonardo Boiteux e Marcos Câmara por toda contribuição dada ao trabalho; agradeço ao Dr. Leonardo e Dra. Esther pelas elucidações de dúvidas e disponibilidade em ajudar;

A minha mãe Tereza por tudo, a minha irmã Mayse pelo incentivo, a Fuzaca e ao Romeu por toda alegria compartilhada mesmo a longa distância, sem vocês nada seria possível;

Aos colegas do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças Stefány, Tiago, Thiago, Cléberly, David pelas risadas e toda ajuda;

A Fabiana pelos melhores bolos e dicas de perfume a Luana pelas melhores dicas; ao Chico por toda paciência e ajuda, ao Iran pelo pão de queijo matinal;

Aos amigos conquistados em Brasília principalmente ao Anderson por aturar minhas chatices;

Ao Willie por ter se mudado de Recife para Brasília só para ficar próximo de mim;

Ao Sr. Nivaldo e dona Silvanira pelos conselhos, conversas, comidas e principalmente por deixarem a Nina “morar” comigo.

Agradeço a todos que participaram direta ou indiretamente desta conquista e que venham as próximas!

SUMÁRIO

Capítulo I	10
Solanáceas	11
Batata	12
Tomate	13
Berinjela	14
Jiló	15
Doenças que afetam batata, tomate, berinjela e jiló	16
Doenças causadas por espécies de <i>Colletotrichum</i> em solanáceas	17
Gênero <i>Colletotrichum</i>	18
Diversidade genética em espécies de <i>Colletotrichum</i>	22
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II	30
INTRODUÇÃO	34
MATERIAL E MÉTODOS	35
Obtenção dos isolados	36
Extração de DNA, amplificação via Reação da Polimerase em cadeia (PCR) e sequenciamento	36
Análises filogenéticas	37
Testes de patogenicidade	38
Preparo de inóculo para a inoculação em plântulas e frutos	38
Teste de patogenicidade em plântulas de berinjela, e em frutos de tomate e jiló	39
Análise estatística	40
Teste de patogenicidade em plântulas de berinjela, frutos de tomate e jiló	47
REFERÊNCIAS	53
CAPÍTULO III	57
INTRODUÇÃO	59
MATERIAL E MÉTODOS	60
Obtenção de isolados	60
Extração de DNA e amplificação de segmentos genômicos de <i>C. tamarilloi</i> via ERIC-PCR	60
Análise de dados	61
CONCLUSÕES	66
REFERÊNCIAS	66
CAPÍTULO IV	70

RESUMO GERAL

A antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, é uma doença destrutiva em solanáceas. É favorecida por altas temperaturas e umidade, que afeta principalmente os frutos com lesões circulares e úmidas. Seus impactos variam conforme a cultura e a região, afetando frutos maduros e em pós-colheita, causando perdas significativas. A doença compromete a qualidade, a aparência e a comercialização dos frutos, resultando em rejeição por consumidores e prejuízos econômicos. Este estudo teve como objetivos identificar isolados de *Colletotrichum* coletados de jiló, berinjela, tomate e batata em várias regiões do Brasil, utilizando filogenia multilocus e investigar a diversidade interespecífica de *C. tamarilloi*. Foram analisados 77 isolados, que foram agrupados em quatro complexos: *Acutatum*, *Truncatum*, *Gloeosporioides* e *Coccodes*. O estudo também investigou a variabilidade genética interespecífica de isolados de *C. tamarilloi* coletados de jiló e berinjela em diferentes regiões do Brasil, usando a técnica de ERIC-PCR. Os resultados mostraram polimorfismo intraespecífico, com a discriminação dos isolados em dois grandes grupos distintos com índice de Jaccard de 80%. Os dois grupos principais incluem isolados de diferentes regiões geográficas, o que sugere uma possível dispersão do patógeno por meio de sementes em várias partes do país. Estudos adicionais são necessários para avaliar se existe uma correlação entre os grupos identificados e características de adaptabilidade, como agressividade e resistência a fungicidas. A alta variedade de espécies de *Colletotrichum* causando antracnose em solanáceas no Brasil pode ser um problema para os produtores manejar a antracnose nestas culturas e uma dificuldade para os programas de melhoramento genético, visando o desenvolvimento de cultivares resistentes.

Palavras-chave: *Solanum aethiopicum* var. *gilo*, *S. lycopersicum*, *S. melongena*, *S. tuberosum*, antracnose, variabilidade do patógeno

GENERAL ABSTRACT

Anthrachnose, caused by species of the genus *Colletotrichum*, is a destructive disease in Solanaceae. It is favored by high temperatures and humidity, which mainly affects fruits with circular and moist lesions. Its impacts vary according to the crop and region, affecting ripe and post-harvest fruits, causing significant losses. The disease compromises the quality, appearance and marketability of fruits, resulting in consumer rejection and economic losses. This study aimed to identify *Colletotrichum* isolates collected from scarlet eggplant, eggplant, tomato and potato in several regions of Brazil, using multilocus phylogeny and to investigate the interspecific diversity of *C. tamarilloi*. A total of 77 isolates were analyzed and grouped into four complexes: *Acutatum*, *Truncatum*, *Gloeosporioides* and *Coccodes*. The study also investigated the interspecific genetic variability of *C. tamarilloi* isolates collected from scarlet eggplant and eggplant in different regions of Brazil, using the ERIC-PCR technique. The results showed intraspecific polymorphism, with the isolation of the isolates into two large distinct groups with a Jaccard index of 80%. The two main groups include isolates from different geographic regions, which suggests a possible dispersal of the pathogen through seeds in various parts of the country. Additional studies are needed to assess whether there is a correlation between the identified groups and adaptability traits, such as aggressiveness and resistance to fungicides. The high variety of *Colletotrichum* species causing anthracnose in Solanaceae in Brazil may be a problem for producers in managing anthracnose in these crops and a difficulty for genetic improvement programs aimed at developing resistant cultivars.

Keywords: *Solanum aethiopicum* var. *gilo*, *S. lycopersicum*, *S. melongena*, *S. tuberosum*, anthracnose, pathogen variability

CAPÍTULO I

Introdução Geral

Solanáceas

A família Solanaceae é uma das maiores entre as plantas vasculares, possuindo cerca de 98 gêneros, com cerca de 2800 espécies (Weese & Bohs, 2007). Trata-se de um grupo taxonômico cosmopolita, que se encontra presente em todos os continentes, desde as regiões tropicais, equatoriais até as temperadas. Muitos gêneros desta família possuem como provável centro de origem as Américas do Sul e Central, locais onde uma maior diversidade de espécies é observada (D'Arcy, 1991; Dupin *et al.*, 2017; Weese & Bohs, 2007). No Brasil já foram identificadas cerca de 507 espécies, divididas entre 36 gêneros (Flora do Brasil, 2024). As plantas desta família são herbáceas anuais, bianuais ou perenes, podendo variar de arbustos até árvores de pequeno porte. As folhas são alternas, simples ou compostas, não apresentam espiculas e possuem margens inteiras ou lobadas. Comumente não possuem inflorescência, possuindo uma única flor, que se distingue por ser actinomorfa em alguns casos zigomorfa, hermafrodita com cálice pentâmero, corola gamopétala, cinco estames, possuindo ovário súpero e bicarpelar. Os frutos podem ser bagas, em forma de cápsulas ou drupas (Knapp, 2002; Souza & Lorenzi, 2005).

A família Solanaceae é uma das mais importantes econômica e culturalmente dentre as Angiospermas. Essa família inclui espécies de grande valor agrônomo e alimentar, como a batata (*Solanum tuberosum*), o tomate (*Solanum lycopersicum*), a berinjela (*Solanum melongena*), o jiló (*Solanum aethiopicum* var. *gilo*), as pimentas e os pimentões (*Capsicum* spp.). Diversas espécies de Solanaceae têm interesse farmacológico significativo, como o estramônio (*Datura stramonium*), o fumo (*Nicotiana tabacum*) e a beladona (*Atropa belladonna*) são fontes de compostos bioativos amplamente utilizados na indústria farmacêutica. Entre os metabólitos secundários de destaque estão os alcaloides tropânicos, como a atropina, empregada em aplicações médicas diversas. Além de contribuir para a horticultura ornamental com espécies como a petúnia (*Petunia* spp.) e a dama-da-noite (*Cestrum nocturnum*), que possuem alto valor estético e são amplamente cultivadas em jardins e paisagismo (Echeverría- Londoño *et al.*, 2020; Soares-Mota, 2010; Zamberlan, 2012).

Dentre os diversos grupos taxonômicos pertencentes à família Solanaceae destaca-se o gênero *Solanum*. Este gênero cosmopolita possui cerca de 1200 espécies, (representando quase metade das espécies da família). As espécies de *Solanum* se encontram distribuídas por biomas temperados e tropicais, incluindo ambientes desérticos, florestas tropicais a pastagens de elevada altitude. No entanto, a América do Sul é considerada o centro de origem e diversidade do gênero *Solanum*. São encontradas cerca de 291 espécies deste gênero no território brasileiro

(Agra *et al.*, 2009; Echeverría Londoño *et al.*, 2020; Hunziker, 2001; Knapp, 2008).

As flores das espécies de *Solanum* apresentam androceu e perianto pentâmeros, anteras amarelas oblongas ou atenuadas da base para o ápice, com deiscência poricida. Este gênero apresenta maior biodiversidade em plantas com flores, as flores possuem diversos formatos e espécies monoicas com flores monoclinas, possuindo espécies autógamas e alógamas, que possuem sistema de incompatibilidade (Roe, 1972; Weese & Bohs, 2007; Whallen & Anderson, 1981). Segundo Barroso *et al.* (1999), os frutos são do tipo baga, indeiscentes, carnosos.

O gênero *Solanum* é o mais expressivo da família Solanaceae, possuindo importância econômica e cultural devido principalmente às hortaliças pertencentes aos gênero que são amplamente cultivadas e consumidas. Destacando a (batata, tomate, berinjela e o jiló).

Batata

A batata (*Solanum tuberosum* L.), possui os Andes peruanos e bolivianos como centro de origem, acredita-se que esta hortaliça seja cultivada há pelos 7.000 anos. Recebe diferentes nomes de acordo com a região onde é cultivada: *araucano* ou *Poni* no Chile, *Iomy* na Colômbia, *Papa* na Espanha, *Patata* na Itália, *Irish* ou *White potato* na Irlanda. É a terceira cultura alimentar mais significativa do planeta e a primeira *commodity* não grão. Estima-se que cerca de um bilhão de pessoas consumam batata diariamente em todo o mundo (Ribeiro *et al.*, 2017). A introdução dessa olerícola no Brasil aconteceu ao final do século XIX, por imigrantes europeus no sul do país, onde o clima para o cultivo era mais favorável e permaneceu sendo a base alimentar para estes imigrantes até o fim do século. A produção significativa só ocorreu em São Paulo na década de 1920 (Miranda Filho & Feltran, 2009).

Botanicamente é uma planta perene, geralmente cultivada de forma bianual, de altura variável entre 50 cm e 1,5 m. O caule se divide em duas partes: área e subterrânea, sendo esta responsável pela formação dos estolões, que terminam em uma porção engrossada denominada tubérculo, sendo estes os órgãos de maior interesse econômico para a cultura. Raízes podem ser adventícias ou pivotantes, dependendo de qual material se originaram. As folhas são compostas, alternas. As inflorescências são tipo cimeira com flores hermafroditas na extremidade do caule. Os frutos são do tipo baga e são utilizados somente para o melhoramento genético (Lopes, 1997).

É um alimento basicamente energético, mas também possui proteínas, além de, ser uma importante fonte de sais minerais. O tubérculo é constituído basicamente por água, carboidratos, fibras e açúcares. Sendo comercializada in natura ou processada na forma de batata frita

congelada, batata palha e chips (Ribeiro et al., 2017).).

Segundo a Associação Brasileira da Batata (ABBA, 2024), as principais variedades plantadas atualmente são ‘Ágata’, ‘Asterix’, ‘Orquestra’, ‘Cupido’, ‘Markies’, ‘Atlantic’ e ‘FL’. Estima-se que a área plantada total seja de 100.000 hectares anuais, sendo a produção destinada ao mercado, a indústria para a produção de chips e pré-fritas e a batata semente. O principal estado produtor é o de Minas Gerais com a produção de 2.203.301 toneladas em 2022 (IBGE, 2024).

Tomate

O tomateiro (*S. lycopersicum* L.), possui como centro de origem reconhecido a América do Sul, mais precisamente a região Andina, que inclui parte da Bolívia, Chile, Colômbia, Equador e Peru (Blanca *et al.*, 2012). Porém alguns autores sugerem que o tomate foi originalmente domesticado no México (Jenkins, 1948). Acredita-se que a introdução do tomateiro no Brasil tenha ocorrido através dos imigrantes italianos.

É uma planta perene cultivada como anual e com porte arbustivo, podendo crescer de forma rasteira, ereta ou semi-ereta. O crescimento pode ser indeterminado (frutos para consumo *in natura*) ou determinado (frutos destinados a indústria). Plantas que apresentam crescimento indeterminado podem alcançar até 10 m anualmente, enquanto as de crescimento determinado por serem rasteiras podem atingir até 1 metro. Possui caule herbáceo, ereto, o sistema radicular é composto por raízes secundárias e adventícias, as flores são hermafroditas, pequenas e agrupadas em cachos o que dificulta a fecundação cruzada. Os frutos são baga carnosos e possuem uma ampla variedade de cor (vermelho, verde, amarelo, roxo) e diversos formatos e tamanhos (redondos, achatados, oblongos e minis) (Alvarenga, 2013).

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), possui importância alimentar e nutricional, por conter betacaroteno, vitamina C e flavonoides e licopeno, um antioxidante que atua na proteção do organismo contra radicais livres, atuando como substância anticancerígena (Fentik *et al.*, 2017; Salim *et al.*, 2020).

Trata-se de uma hortaliça cultivada em quase todo o território nacional. A produção destina-se à indústria e consumo *in natura*, sendo o tomate Salada Longa Vida o principal tomate comercializado no país para este fim, seguido pelo tomate Italiano e o mini tomate (cereja) (CONAB, 2019). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), o Brasil é nono maior produtor, sendo responsável por 2,5% da produção mundial. A China, Índia e os Estados Unidos, que ocupam as três primeiras posições, são

responsáveis por 31%, 11% e 8%, respectivamente (FAOSTAT, 2018). É uma hortaliça cultivada em diversas regiões tropicais e subtropicais, sendo consumida *in natura* e também utilizada na fabricação de ampla gama de produtos processados, como molhos, extratos, sopas e frutas inteiras em conserva. É uma hortaliça disponível durante todo o ano e seu volume é variável de acordo com a região e a sazonalidade das safras.

Em 2022 a produção de tomate no Brasil foi de 3.809.986 toneladas sendo o estado de Goiás o maior produtor e responsável por 2.408.371 toneladas. Vale ressaltar que a produção de Goiás é destinada principalmente ao processamento industrial, sendo os frutos usados na produção de molhos e extratos. Para o consumo *in natura* destaca-se a produção dos estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Bahia (IBGE, 2024). São Paulo e Minas Gerais, possuem a produção mais tecnificada e em áreas maiores, o que torna a cadeia produtiva mais organizada, permitindo assim que parte da produção se destine a exportação, sendo a Argentina o principal destino (CONAB, 2019).

Berinjela

As espécies cultivadas de berinjela (*Solanum melongena* L.) têm como origem o velho mundo (África e Eurásia) (Ranil et al., 2017). Esta hortaliça foi introduzida no Brasil pelos portugueses no sec. XVI, sendo os orientais e seus descendentes os maiores consumidores.

Possui caule semi-ereto lenhoso, ereto ou prostrado, podendo atingir até 1,8 m de altura. Trata-se de uma planta de porte arbustivo. O sistema radicular é profundo podendo ultrapassar 1 metro. As folhas são alternas, simples e apresentam limbo ovado ou oblongo-ovado, pilosas e algumas cultivares podem apresentar espinhos, já as flores são solitárias ou dispostas em cimeiras, os frutos são do tipo baga, pendentes e possuem sabor amargo e formato (oblongos, oval, alongados) e cores (rosa, branco, púrpura, preta) variados e são destinados a alimentação (Kaur et al., 2013).

São consumidos em diversas formas de preparo, possuindo atividade antioxidante e atuando no controle de diabetes, hipertensão, possuindo efeitos protetores sobre o fígado e sistema gástrico (Kaur et al., 2013; Ribeiro et al., 1998; Sabir & Rocha, 2008).

A preferência dos consumidores brasileiros é por frutos de formato mais alongado, de coloração roxo-escuro e brilhante com pedúnculo verde e as principais cultivares de polinização aberta disponíveis no mercado brasileiro são: ‘Embu’, ‘Flórida Market’, ‘Preta Comprida’, ‘Comprida Roxa’, ‘Redonda Roxa’ e ‘Redonda’ Rosa. Os principais híbridos são: ‘Ciça’, ‘Solara’, ‘Nápoli’, ‘Napolitana’, ‘Roma’, ‘Romanita’, ‘Milaneza’, ‘Ryoma’, ‘Kokuyo’, ‘Shoya

Long’, ‘Kumamoto Naganassu’, ‘Kokushi Oonaga’ e ‘Kuro Kunishik’ (EMBRAPA-Hortaliças, 2007).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2024), a produção brasileira de berinjela em 2017 se aproximou de 71.914 toneladas e o estado responsável pela maior produção desta hortaliça é São Paulo com a produção estimada em 25.057 toneladas. O mercado brasileiro é dominado por híbridos devido às características de tolerância a doenças e pragas, alta produtividade, qualidade e uniformidade dos frutos que estes apresentam. O híbrido mais cultivado é Nápoli dada a sua produção de plantas muito vigorosas, frutos alongados, coloração vinho escura brilhante, lenta formação de sementes, seguido por Ciça devido, à sua elevada produtividade, qualidade do fruto, resistência às doenças e precocidade (Antonini *et al.*, 2002; Echer *et al.*, 2016).

Jiló

O jiló (*S. aethiopicum* L. var. *gilo*) é conhecido como beringela africana, *scarlett eggplant* e tem como provável centro de origem a África, onde foi domesticada a partir da espécie selvagem *Solanum anguivi* Lam (Anaso, 1991; Han *et al.*, 2021).

Trata-se de uma planta herbácea perene, porém cultivada como anual, possui porte ereto e crescimento indeterminado. As folhas são oblongas e profundamente anguladas, possuindo de 2 a 4 flores dispostas em racemo, os frutos são do tipo baga solitários e possuem casca fina, formato oblongo, alongado ou redondo, e com sabor característico amargo (Pinheiro *et al.*, 2015).

Possui fibras, proteínas e minerais em sua constituição, além das vitaminas B1 e B2 (tiamina) e (riboflavina), além de vitamina C (ácido ascórbico), sendo conhecida por seu poder antioxidante, cicatrizante e estimulante a produção de colágeno (Sekara *et al.*, 2007). Acredita-se que esta hortaliça foi introduzida no Brasil no século XVII junto com os escravos que vieram para cultivar a cana-de-açúcar em Pernambuco durante a colonização. Para os africanos esta hortaliça possui grande importância na tradição e cultura, sendo amplamente distribuída neste continente (Chinedu *et al.*, 2011; Danquah & Ofori, 2012, Han *et al.*, 2021).

No Brasil o cultivo é praticado predominantemente na região sudeste, sendo essa região responsável por cerca de 71,2% da produção dessa hortaliça. Em 2017 a produção foi de 78.851 toneladas, sendo o estado do Rio de Janeiro o principal produtor com a produção de 21.516 toneladas, seguido pelos estados de Minas Gerais e São Paulo (IBGE, 2024). Essa hortaliça possui grande importância e impacto sobre a agricultura familiar brasileira. As principais

cultivares são a ‘Tinguá’, que possui frutos oblongo-alongados e de coloração verde-clara, ‘Comprido Verde Claro’, ‘Comprido Grande Rio’, ‘Comprido Gurupi’, ‘Português’, ‘Teresópolis Gigante’, ‘Tinguá Verde Claro’. Os frutos destas cultivares são alongados e de coloração verde-claro. As cultivares com fruto redondo e coloração verde escura são: ‘Cristal’, ‘Esmeralda’ e ‘Morro Grande’. As cultivares variam de região produtora em decorrência da preferência do mercado consumidor (Pinheiro *et al.*, 2015).

A produção de hortaliças do gênero *Solanum* enfrenta diversos entraves que comprometem a eficiência e a sustentabilidade dessas culturas, sendo as doenças um dos principais desafios. Entre os fatores que dificultam o sucesso do cultivo, destaca-se o elevado número de patógenos (bactérias, nematoides, vírus, oomicetos e fungos) que impactam diretamente tanto a produtividade quanto a qualidade dos frutos, afetando o rendimento e a viabilidade econômica.

Doenças que afetam batata, tomate, berinjela e jiló

A murcha bacteriana é causada pelo complexo de espécies *Ralstonia solanacearum* (RSSC), ocasiona muitos danos em *S. lycopersicum*, *S. tuberosum*, *S. melongena*, porém não é um grande problema para os cultivos de *S. aethiopicum* L. var *gilo*. Entretanto, não se pode desprezar a incidência da mesma nos jiloeiros do norte do Brasil. É responsável por perdas significativas em épocas mais quentes do ano em solos muito úmidos em cultivos de batata (Caldwell *et al.*, 2017; Salgon *et al.*, 2017). A podridão mole dos frutos é causada por espécies de *Pectobacterium* e *Dickeya*. Estas bacterioses são responsáveis por perdas significativas no campo, armazenamento e durante o transporte, principalmente para a cultura do tomateiro e batateira (Ahmed *et al.*, 2018).

Nematoides do gênero *Meloidogyne*, são os principais agentes causais das galhas radiculares em berinjeiras, jiloeiros, batateiras e tomateiros, em campos de cultivos no Brasil. Observam-se reboleiras irregulares com plantas raquíticas, murchas e amarelas. Em batata causam protuberâncias nos tubérculos que causam a redução na produção, mas sobretudo afetam a qualidade do produto. O nematoide das lesões (*Pratylenchus* spp.) também é comum em solos brasileiros e causa danos quando atacam os tubérculos que ficam escurecidos (Pereira *et al.*, 2012; Reis *et al.*, 2012).

O *Tomato chlorosis virus* (ToCV) causa amarelecimento internerval em folhas mais velhas de jiloeiro e berinjela (Fonseca *et al.*, 2016; Pavan *et al.*, 2016). Em batateira as principais viroses são *Potato leafroll virus* – PLRV, que causa o enrolamento das folhas e (*Potato virus Y*

– PVY) que ocasiona mosaico, sendo atualmente considerada a principal causa da degenerescência da batata-semente. Em tomate e berinjela (Jorge *et al.*, 2023) destacam-se as viroses causadas por espécies dos gêneros *Begomovirus* e *Orthotospovirus*.

Diferentes espécies de oomicetos do gênero *Phytophthora* ocasionam podridões em frutos de tomate, jiló e berinjela, além de ocasionar murchas em plantas de tomate e berinjela (Reis *et al.*, 2021). A requeima é a principal doença da batata em todo o mundo. Por sua vez, o fungo *Verticillium dahliae*, ocasiona a murcha de *Verticillium*, doença que causa um sério problema para o cultivo de hortaliças, podendo ocasionar prejuízos em áreas de cultivo de solanáceas (Suaste-Dzul *et al.*, 2022). Outras doenças fúngicas que podem acometer as solanáceas: a mancha de *Stemphylium*, causada por *Stemphylium solani* e *S. lycopersici* é considerada doença secundária para tomateiro e pode ocasionar perdas em jiloeiros a depender da temperatura e época do ano. *Alternaria linariae* e *A. grandis* foram confirmados como os principais agentes causais da pinta preta do tomateiro e da batata, respectivamente. No entanto, outras espécies de *Alternaria* também estão envolvidas com a pinta preta em outras solanáceas no Brasil, sendo uma doença secundária em berinjela (Peixoto *et al.*, 2021). A murcha de *Fusarium*, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* é uma importante doença para o tomateiro pois afeta a planta em qualquer estágio e está presente em todos os países produtores (Srinivas *et al.*, 2019). Diferentes espécies de *Fusarium* spp. estão associadas à cultura da batata causando prejuízos no campo e durante o armazenamento (Tofoli *et al.*, 2016).

A antracnose doença causada por espécies de fungos do gênero *Colletotrichum* é considerada uma das mais importantes e destrutivas doenças em solanáceas, afetando principalmente as partes comercializáveis destas hortaliças, destruindo-as ou tornando-as impróprias para o mercado (Tofoli *et al.*, 2015).

Doenças causadas por espécies de *Colletotrichum* em solanáceas

A antracnose, doença causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, é considerada uma das mais importantes e destrutivas doenças das solanáceas. A doença nos frutos se caracteriza por apresentar lesões geralmente circulares ou ovaladas, deprimidas, escuras, úmidas e concêntricas, quase sempre cobertas por uma massa de conídios rosados ou alaranjados. Nas folhas, pecíolos e caules, os sintomas são lesões castanhas deprimidas e irregulares, em alguns casos pode-se observar necroses nos botões florais, flores e seca de frutos. As epidemias da doença são favorecidas por temperaturas que variam de 22 a 30 °C e elevada umidade (Reis *et al.*, 2009; Töfoli *et al.*, 2015).

A antracnose em batata é conhecida como *Potato black dot disease*, causando sintomas em folhas e afetando negativamente a aparência dos tubérculos, uma vez que causa a rejeição pelos consumidores. Sendo um problema principalmente para as regiões produtoras de clima ameno, como o Reino Unido. Estima-se que em 2023, esta doença causou prejuízos de cerca de US\$ 3,8 milhões (Sanzo-Miró *et al.*, 2023). Porém apesar de estar presente no Brasil, trata-se de uma doença secundária, não causando grandes prejuízos ao cultivo.

Em berinjela a doença afeta todos os órgãos aéreos da planta, porém, a sintomatologia é observada principalmente nos frutos maduros e jovens, sendo os ramos e as folhas afetados em menor intensidade. A doença também pode ocasionar tombamento em mudas e plântulas (Madeira, 1989).

Em frutos de tomate a doença se inicia com pequenas pontuações de coloração marrom, com o aumento das lesões estas podem coalescer e formar uma área circular, deprimida e extensa, de onde as massas de esporos serão liberadas (Reis *et al.*, 2009).

Apesar do jiló ser considerado uma hortaliça rústica em relação a doenças, a antracnose é a mais importante e com ocorrência em todas as áreas de cultivo, os sintomas ocorrem geralmente em pós-colheita em forma de lesão circular e de diâmetro variável (Pavan *et al.*, 2016).



Figura 1-Frutos de A- berinjela, B- jiló, C- tomate com sintomas de antracnose, causados por *Colletotrichum* spp.

Gênero *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum* foi descrito por Corda (1831), pertence ao filo *Ascomycota*, classe *Sordariomycetes*, ordem *Glomerellales*, família *Glomerellaceae*. Possui micélio septado, conídio unicelulares, hialinos, reprodução assexuada. A colônia pode apresentar diferentes cores, pode ocorrer a presença de escleródios (Sutton, 1992; Weir *et al.*, 2012).

Engloba um elevado número de espécies com expressiva importância econômica,

causando doenças em uma vasta gama de hospedeiros. Estando presente nas regiões tropicais e subtropicais, e algumas espécies atacam culturas de clima temperado (Cannon *et al.*, 2012).

O gênero *Colletotrichum* ocupa o oitavo lugar em importância econômica dentre os fungos que atacam plantas em todo o mundo. Tal fato, se deve a que praticamente todas as plantas cultivadas são atacadas por uma ou mais espécies de *Colletotrichum*, devido ao mesmo possuir diferentes modos de colonização e de parasitismo: biotrofia, hemibiotrofia, necrotrofia e endofitismo (Dean *et al.*, 2012).

Anteriormente a revisão de Corda (1831), o gênero foi conhecido como *Vermicularia* (Tode, 1790), nome dado a espécies que possuem conídios curvados. Corda (1837), definiu o gênero *Colletotrichum* baseado na morfologia dos conídios. Características como a estrutura e forma da conidiomata, além da presença ou ausência de setas marginais, foram usadas para distinguir espécies de *Colletotrichum* das de *Vermicularia*. Como resultado, muitas espécies passaram a ser incluídas no gênero *Colletotrichum* (Duke, 1928).

Em 1957, cerca de 750 espécies eram reconhecidas como pertencentes ao gênero *Colletotrichum*. Nesse mesmo ano foi proposto a unificação dos gêneros *Colletotrichum*, *Vermicularia* e *Gloesporium* por Von Arx, essa unificação foi proposta baseada em características morfológicas, o que reduziu o número de espécies a 11. Com a adoção de um sistema de chave de identificação baseado em caracteres morfológicos e patogênicos, o número de espécies aceitas aumentou para 40 (Sutton, 1980; 1992).

Por muito tempo os caracteres morfológicos foram utilizados com principal ou única forma para a identificação de espécies. A identificação era realizada pela combinação de características morfológicas, geográficas e ecológicas, porém, a plasticidade gerada pelos caracteres morfológicos que são utilizados na taxonomia convencional torna impossível o emprego desta como a única maneira para identificar e delimitar espécies de *Colletotrichum* (Cai *et al.*, 2009; Marin-Felix *et al.*, 2017, Vieira *et al.*, 2017).

A necessidade de utilizar critérios além dos morfológicos para a identificação e classificação das espécies do gênero *Colletotrichum* tornou-se amplamente reconhecida. Então em 1990, durante o primeiro *International Workshop on Colletotrichum*, realizado na Universidade de Bath, no Reino Unido, essa questão foi destacada e discutida por pesquisadores das áreas de taxonomia e biologia molecular (Cannon *et al.*, 2012). Com o advento da biologia molecular novas técnicas e ferramentas de identificação baseadas na comparação de ácidos nucleicos foram consideradas como úteis para a resolução de problemas de delimitação de espécies do gênero *Colletotrichum* (Bruns *et al.*, 1991).

Os primeiros estudos empregando técnicas moleculares para o gênero foram conduzidos

por Mills *et al.* (1992), tais estudos utilizaram a região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) para diferenciação de espécies. Em 2002 foram publicados os primeiros estudos com análise multilocus empregando os genes *TUB2* (β -tubulin) e *HIS4* (*Histone 4*), uma vez que, o emprego somente da região ITS já se mostrava insuficiente (Talhinhas *et al.*, 2002).

Diversos estudos subsequentes foram publicados, abordando diferentes grupos de regiões gênicas, com o objetivo de estabelecer metodologias mais robustas (Damm *et al.*, 2009; Phoulivong *et al.*, 2010). Em 2009, uma revisão baseada em critérios morfológicos e na abordagem filogenética multilocus foi apresentada, culminando na identificação de 66 espécies de *Colletotrichum*. Nesse contexto, enfatizou-se novamente a importância do uso de métodos moleculares para uma classificação mais precisa (Hyde *et al.*, 2009).

Atualmente, são reconhecidas aproximadamente 340 espécies e estas estão divididas em 20 complexos de espécies: *Acutatum*; *Agaves*; *Bambusicola*; *Boninense*; *Caudatum*; *Coccodes*; *Citri-medicae*; *Dematium*; *Dracaenophilum*; *Destructivum*; *Gigasporum*; *Gloeosporioides*; *Graminicola*; *Magnum*; *Orbiculare*; *Orchidearum*; *Spaethianum*; *Tibetense*; *Trichellum* e *Truncatum* (Talinhas & Baroncelli, 2023).

Para o gênero *Colletotrichum*, os complexos de espécies são definidos como os principais clados bem suportados na árvore filogenética do gênero. Esses clados englobam espécies filogeneticamente próximas, que não podem ser diferenciadas com base em características fenotípicas, como o formato e tamanho de conídios e apressórios, taxa de crescimento e coloração das colônias. Essas espécies, conhecidas como crípticas, compartilham similaridades fenotípicas. Os complexos de espécies recebem sua denominação com base na espécie mais conhecida ou na primeira descrita dentro do grupo (Vieira *et al.*, 2020).

A diferenciação das espécies que estão contidas nos diferentes complexos do gênero, é feita através de filogenia multilocus (Marin-Felix *et al.*, 2017). Nos últimos anos, diversos estudos têm sido conduzidos com o objetivo de identificar o conjunto ideal de marcadores moleculares para a distinção de espécies desse gênero (Cai *et al.*, 2009; Vieira *et al.*, 2017).

Vieira *et al.* (2020) apresentaram uma pesquisa que definiu os marcadores mais eficazes para a delimitação de espécies em 13 complexos do gênero *Colletotrichum*, sendo os marcadores utilizados para a filogenia multilocus:

Complexo *C. acutatum* – *Act* (Actina); *CHS-1* (Quitina sintase); *Gapdh* (Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase); *HIS3* (Histona 3); nrITS (Espaçadores Transcritos Internos de rDNA nuclear) e *TUB2* (β -tubulina);

Complexo *C. boninense* – *Act*; *CAL* (Calmodulina); *CHS-1*; *HIS3*; nrITS e *Tub2*;

Complexo *C. destructivum* – *Act*; *CHS-1*; *Gapdh*; *HIS*; nrITS e *Tub2*;

Complexo *C. gloeosporioides* – APN2 (DNA liase); APN2/MAT-IGS (espaçador intergênico entre DNA liase e o locus de tipo de acasalamento (MAT1-2-1); GAPDH; GS (Glutaminasintetase) e Tub2;

Complexo *C. orchidearum* – Act; CHS-1; Gapdh; HIS3; nrITS e Tub2;

Complexo *C. truncatum* – Act; Gapdh; nrITS e Tub2.

Atualmente não existem muitos estudos disponíveis quanto a identificação de espécies de *Colletotrichum* associados à batata, tomate, berinjela e jiló. Os estudos conduzidos no Brasil a respeito das espécies de *Colletotrichum* associadas a estas hortaliças são baseados sobretudo em caracteres morfológicos (tamanho e forma de conídios formato de apressórios, além de características de crescimento micelial, como coloração e taxa de crescimento em diferentes temperaturas) e utilizando em alguns casos uma pequena quantidade de isolados (Alexandre *et al.*, 2014; Castilho *et al.*, 2007; Madeira, 1989; Reis *et al.*, 2009; Tofolli *et al.*, 2015; Tozze-Júnior *et al.*, 2006).

Os estudos moleculares sobre a etiologia de espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em solanáceas (pimenta, pimentão e jiló) realizados por Bueno (2005) não utilizaram de regiões informativas para os complexos por eles encontrados (*Acutatum*, *Gloeosporioides* e *Coccodes*), além da dualidade gerada pela não concordância entre a análise molecular e a morfológica. Os estudos realizados por Oliveira (2017), utilizando as regiões (*GAPDH*, *ACT* e *TUB2*) para elucidar a etiologia da antracnose em jiló, identificaram a espécie *C. tamarilloi*, pertencente ao complexo *C. acutatum* em todos os isolados utilizados.

A nível mundial Manova *et al.* (2022), utilizaram os genes ITS, *Act*, (*EF-1a*), *Translation elongation factor-1 a*, e *Tub2*. Para a determinar a etiologia das espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em batata, tomate, berinjela e pimentas e pimentões na Bulgária. Identificaram as espécies (*C. nymphaeae*, *C. godetiae* e *C. salicis*) pertencentes ao complexo *C. acutatum*, a espécie *C. cigarro*, pertencente ao complexo *Gloeosporioides* foi identificada, todas as espécies referidas foram identificadas em frutos de tomate, pimenta e pimentões. As espécies *C. nigrum* e *C. coccodes* pertencentes ao complexo *Coccodes* também foram identificadas, sendo a espécie *C. nigrum* em frutos, e *C. coccodes* em tubérculos de batata.

As espécies anteriormente relatadas em solanáceas, pertencem aos complexos: *C. acutatum* sensu lato; *C. boninense* sensu lato; *C. destructivum* sensu lato; *C. gloeosporioides* sensu lato; *C. orchidearum* sensu lato; *C. truncatum* sensu lato, espécies relatadas associadas às Solanáceas são: *C. salicis*; *C. simmondsii*; *C. tamarilloi*; *C. boninense*; *C. torulosum*; *C. destructivum*; *C. gloeosporioides*; *C. plurivorum*; *C. coccodes*; *C. nigrum*; *C. fioriniae*; *C.*

johnstonii; e *C. nymphaeae* (Chechi *et al.*, 2019; Damm *et al.*, 2012a; Damm *et al.*, 2012b; Damm *et al.*, 2014; Damm *et al.*, 2019; Jayawardena *et al.*, 2016; Jayawardena *et al.*, 2021).

Os estudos referidos anteriormente utilizaram-se somente de caracteres morfológicos para a determinação das espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em *Solanum*, uma pequena quantidade de isolados e com pouca abrangência geográfica, ou os marcadores utilizados não são informativos, como os recomendados por Viera *et al.* (2020). Evidenciando assim a necessidade da identificação das espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em batata, jiló, tomate e berinjela para que se possa ter mais informações quanto a diversidade de espécies presentes nestes hospedeiros.

Diversidade genética em espécies de *Colletotrichum*

O polimorfismo genético varia entre as espécies e dentro das espécies e tem implicações importantes para a evolução e conservação das mesmas (Ellegren & Galtier, 2016). Os indivíduos de uma determinada espécie não são idênticos geneticamente. As sequências de DNA podem diferir e essa diferença constitui a diversidade genética ou polimorfismo genético da espécie. O polimorfismo também varia entre os loci e cromossomos de plantas, animais e fungos (Doniger *et al.*, 2008; Ellegren & Galtier, 2016). Segundo Silva *et al.* (2020), diversos mecanismos podem desempenhar importante papel na diversidade: heterocariose, ciclo parassexual, ciclo sexual, atividade do elemento transponível e mutações pontuais.

Diferentes técnicas moleculares vêm sendo empregadas para estudar a diversidade interespecífica (entre espécies) e intraespecífica (dentro da mesma espécie) do gênero *Colletotrichum* (Silva *et al.*, 2019; Vila Nova *et al.*, 2011). As técnicas baseadas em regiões repetitivas do genoma conhecidas como rep-PCR, que consiste na amplificação via PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e análise das sequências REP (*Repetitive Extragenic Palindromic Sequences*), ERIC (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequences*) e BOX (elementos BOX), foram inicialmente utilizadas para avaliar a diversidade genética existente em organismos procariotos (Versalovic *et al.*, 1994). No entanto, quando utilizadas para fungos mostraram-se eficientes para o agrupamento e diferenciação de isolados baseados no perfil de bandas apresentados por cada indivíduo/isolado (Jedryczka *et al.*, 1999). Essas técnicas foram previamente utilizadas com sucesso na diferenciação de isolados de *Colletotrichum* (Karimi *et al.*, 2019; Mehta & Mehta, 2009; Patricia *et al.*, 2021). Em alguns casos apenas uma região repetitiva apresenta informações discriminatórias permitindo assim que ocorra a diferenciação

eficiente de espécies. Estudos de comparação entre as técnicas concluíram que a ERIC-PCR apresenta melhores resultados que a REP-PCR (Kim *et al.*, 2003; Rasschaert *et al.*, 2005). As sequências do ERIC possuem tamanhos em torno de 126 pb com uma repetição invertida central altamente conservada. Está situado em regiões transcritas não codantes (Waturangi *et al.*, 2012). A técnica de ERIC-PCR para *Colletotrichum*, permite a maior e melhor separação dos isolados com base nos perfis de banda que se formam, sendo útil também quando se tem um número grande de isolados, auxiliando assim na seleção e triagem de quais serão utilizados nas demais análises com base nos perfis de bandas apresentados (Silva *et al.*, 2019).

Mediante a pouca informação existente a respeito das espécies de *Colletotrichum* que causam antracnose em (tomate, jiló, batata e berinjela), e aos estudos anteriormente realizados em sua maioria terem utilizados somente dos caracteres fenotípicos ou não terem utilizados de marcadores informativos para a taxonomia das espécies do gênero *Colletotrichum*. Além de em alguns casos possuírem uma baixa amostragem tanto em número de isolados, como em regiões geográficas. O presente estudo busca identificar quais as espécies de *Colletotrichum* que causadoras de antracnose nas solanáceas (tomate, jiló, batata e berinjela), através de filogenia multilocus, mensurar a variabilidade intraespecífica de *Colletotrichum tamarilloi* obtidos em frutos de jiló e berinjela em diferentes estados brasileiros através de ERIC-PCR e mensurar a patogenicidade dos isolados em plântulas de berinjela e frutos jiló e tomate.

REFERÊNCIAS

- ABBA– Associação Brasileira da Batata. **Disponível em:** <https://www.abbabatatabrasileira.com.br/> Acesso em : 01, ago, 2024.
- AGRA, M. D. F.; NURIT-SILVA, K.; BERGER, L. R. Flora da Paraíba, Brasil: *Solanum* L. (Solanaceae). **Acta Botânica Brasileira**, Alta Floresta, v. 23, p. 826-842, 2009.
- AHMED, F.A.; LARREA-SARMIENTO, A.; ALVAREZ, A.M.; ARIF, M. Genome-informed diagnostics for specific and rapid detection of *Pectobacterium* species using recombinase polymerase amplification coupled with a lateral flow device. **Scientific Reports** London, v.8, 2018.
- ALEXANDRE, E.R; HERCULANO, L.M; SILVA, J.M; OLIVEIRA, S.M.A. Fosfitos no manejo da antracnose do jiló. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.49, p. 930–938, 2014.
- ALVARENGA, M. A. R. Origem, Botânica e descrição da planta. In: ALVARENGA, M. A. R. (Ed.). Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. 2.ed. rev.e ampl. Lavras: Editora Lavras, 2013. cap.1, p. 11-21.
- ANASO, H.U. Comparative cytological study of *Solanum aethiopicum* Gilo group, *Solanum aethiopicum* Shum group and *Solanum anguivi*. **Euphytica**, Netherlands, v.53,p. 81–85, 1991.
- ANTONINI, A.C.C.; ROBLES, W.G.R.; TESSARIOLI NETO, J.; KLUGE, R.A. Capacidade produtiva de cultivares de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 20, n. 4, p. 646-648, 2002.
- BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada a**

sistemática de dicotiledôneas Viçosa: UFV, 1999. p.443.

BLANCA, J.; CAÑIZARES, J.; CORDERO, L.; PASCUAL, L.; DIEZ, M.J.; NUEZ, F. Variation revealed by SNP genotyping and morphology provides insight into the origin of the tomato. **PloS One**, California, v. 7, e48198, 2012.

BUENO, C.R.N.C. **Identificação e caracterização das espécies de Colletotrichum causadoras de antracnose em hortaliças solanáceas**. 2006, 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

BRUNS, T.D; WHITE, T.J; TAYLOR, J.W. Fungal Molecular Systematics. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, California, v. 22, p. 525-564, 1991.

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

CALDWELL, D.; KIM, B.S.; IYER-PASCUZZI, A.S. *Ralstonia solanacearum* Differentially colonizes roots of resistant and susceptible tomato plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 107, p. 528–536, 2017.

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

CASTILHO, L.B; REIS, A; HENZ, G.P. Identificação Morfométrica de Isolados de *Colletotrichum* spp. Causadores de Antracnose em Solanáceas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 29. Embrapa Hortaliças. Brasília, 2007.

CHECHI, A.; STAHLCKER, J.; DOWLING, M.E.; SCHNABEL, G. Diversity in species composition and fungicide resistance profiles in *Colletotrichum* isolates from apples. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 158, p. 18–24, 2019.

CHINEDU, S.N.; OLASUMBO, A.C.; EBOJI, O.K.; EMILOJU, O.C.; ARINOLA, O.K.; DANIA, D.I. Proximate and phytochemical analyses of *Solanum aethiopicum* L. and *Solanum macrocarpon* L. fruits. **Research Journal of Chemical Sciences**, India, v. 1, p. 63–71, 2011.

CONAB. Tomate: análise dos indicadores da produção e comercialização no mercado mundial, brasileiro e catarinense. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento/Compêndio de Estudos Conab, 2019. **Disponível em:** < <https://www.conab.gov.br> > Acesso em 10 ago. 2024.

CORDA, A.C.I . **Die Pilze Deutschlands**. In: Deutschlands Flora in Abbildungen nach der Natur mit Beschreibungen 3 (ed. J. Sturm). Abt., tab. 21-32. Nürnberg: Sturm 12: 33-64, 1831.

CORDA, A.C.I. **Icones Fungorum hucusque cognitorum** vol. 1. Calve, Prague, 1837.

D'ARCY, W.G. **The Solanaceae** since 1976, with a review of its biogeography. In: HAWKES, J.G.; LESTER, R.N.; NEE, M.; ESTRADA, N. (Ed.). *Solanaceae III: taxonomy, chemistry, evolution*. London: Kew Royal Botanical Gardens, 1991. p. 75–137.

DAMM, U.; Woudenberg, J.H.C.; CANNON, P.F.; CROUS, P.W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, p. 45– 87, 2009.

DAMM, U.; CANNON, P.F.; Woudenberg, J.H.C.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, Netherlands, v. 73, p. 37–113, 2012b.

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

DAMM, U.; SATO, T.; ALIZADEH, A.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. **Studies in Mycology**, Netherlands, v. 92, p. 1–46, 2019.

DANQUAH, J.A.; OFORI, K. Variation and correlation among agronomic traits in 10 accessions of garden eggplant (*Solanum gilo* Raddi) in Ghana. **International Journal of Science and Nature**, India, v.3, p. 373–379, 2012.

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

DONIGER, S.W.; KIM, H.S.; SWAIN, D.; CORCUERA, D.; WILLIAMS, M.; YANG, S.P.; FAY, J.C. A catalog of neutral and deleterious polymorphism in yeast. **PLoS Genetics**, California, v. 29, 2008.

DUKE, M.M. The genera *Vermicularia* Fr. and *Colletotrichum* Cda. **Transactions of the British Mycological**, London, v.13, p. 156–184, 1928.

DUPIN, J.; MATZKE, N. J.; SÄRKINEN, T.; KNAPP, S.; OLMSTEAD, R. G.; BOHS, L.; SMITH, S. D. Bayesian estimation of the global biogeographical history of the Solanaceae. **Journal of Biogeography**, United Kingdom, v. 44, n. 4, p. 887–899, 2017.

ECHER, MM; DALASTRA, GM; HACHMANN, TL; GUIMARÃES, VF; FIAMETTI, MS. 2016. Desempenho de cultivares de berinjela em plantio direto e convencional. **Horticultura Brasileira**, Campinas, 34: 239–243.

ECHEVERRÍA-LONDOÑO, S; SÄRKINEN, T; FENTON, I.S; PURVIS, A; KNAPP, S. Dynamism and context-dependency in diversification of the megadiverse plant genus *Solanum* (Solanaceae). **Journal of Systematics**, China, v. 58, p. 767–782, 2020.

ELLEGREN, H; GALTIER, N. Determinants of genetic diversity. **Nature Reviews**, United Kingdom, v. 17, 2016.

EMBRAPA HORTALIÇAS. Berinjela (*Solanum melongena* L.). Brasília : Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2007. **Disponível em:** <http://https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Berinjela/Berinjela_Solanumelongena_L/ind ex.html > Acesso em 12 set. 2024.

FAOSTAT. Roma: Food and Agriculture Organization, 2018. **Disponível em:** <<http://faostat3.fao.org/home/index.html> > Acesso em 30 ago.2024.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**: Agrotecnologia Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças. 3ªed. Viçosa, Editora: UFV, 2013. p. 421.

FONSECA, M.E.N.; BOITEUX, L.S.; LIMA, M.F.; MENDONÇA, J.F.; COSTA, A.F.; FONTES, M.G.; COSTA, H. & GONZÁLEZ-ARCOS, M. First report of tomato chlorosis virus infecting eggplant and scarlet eggplant in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 100, p. 867, 2016.

HAN, M; OPOKU, N. K; BISSAH, N.A.B; SU, T. *Solanum aethiopicum*: The Nutrient-Rich Vegetable Crop with Great Economic, Genetic Biodiversity and Pharmaceutical Potential. **Horticulturae MDPI**, Switzerland, v.7, n .126, p. 2-17, 2021.

HYDE, K.D.; CAI, L.; CANNON, P.F.; CROUCH, J.A.; CROUS, P.W.; DAMM, U.; GOODWIN, P.H.; CHEN, H.; CHEN, H.; JOHNSTON, P.R.; JONES, E.B.G.; LIU, Z.Y.; MCKENZIE, E.H.C.; MORIWAKI, J.; NOIREUNG, P.; PENNYCOOK, S.R.; PFENNING, L.H.; PRIHASTUTI, H.; SATO, T.; SHIVAS, R.G.; TAN, Y.P.; TAYLOR, P.W.J.; WEIR, B.S.; YANG, Y.L.; ZHANG, J.Z. *Colletotrichum*—names in current use. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, n. 1, p. 147–182, 2009.

HUNZIKER, A.T. **Genera Solanacearum**: The Genera of the Solanaceae Illustrated, Arranged According to a New System. Liechtenstein: Gantner Verlag, Ruggell, 2001.

IBGE –Produção de berinjela. Brasília: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Disponível em:** <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/berinjela/br> > Acesso em :01, setembro de 2024.

IBGE –Produção de tomate. Brasília: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Disponível em:** <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/tomate/br> > Acesso em :01, setembro de 2024.

IBGE –Produção de jiló. Brasília: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Disponível em:**

<<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/jilo/br>> Acesso em :01, setembro de 2024.

IBGE –Produção de batata. Brasília: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Disponível em:** <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/batata/br>> Acesso em :01, setembro de 2024.

JAYAWARDENA, R.S; HYDE, K.D; DAMM, U; CAI, L; LIU, M; LI, X.M; ZHANG, W; ZHAO, W.S; YAN, J.Y. Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. **Mycosphere**, Philippines, v. 7, p. 1192–1260, 2016.

JAYAWARDENA, R.S; BHUNJUN, C.S; HYDE, K.D; GENTEKAKI, E; ITTHAYAKORN, P. *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. **Mycosphere**, Philippines, v. 12, p. 519–669, 2021.

JEDRYCZKA, M; ROUXEL, T; BALESDENT, M. Rep-PCR based genomic fingerprinting of isolates of *Leptosphaeria maculans* from Poland. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 105, p. 813–823, 1999.

JENKINS, J.A. The origin of the cultivated tomato. **Economic Botany**, Illinois, v. 2, p. 379–392, 1948.

JORGE, T.S; REIS, L.N.A; FONTES, M.G; MELO, F.F; NERY, F.M.B.; PEREIRA-CARVALHO, R.C; BOITEUX, L.S; LIMA, M.F. Confirmation of groundnut ringspot orthotospovirus infection in eggplant cultivars in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v 107, p. 2567, 2023.

KNAPP, S. *Solanum section Geminata (Solanaceae)*. Flora Neotropica, Monograph 84. New York: The New York Botanical Garden Press, 2002. p.404.

KNAPP, S. A Revision of the *Solanum havanense* species group and new taxonomic additions to the Geminata Clade (*Solanum*, Solanaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Missouri, v.95, p.405-458, 2008.

KARIMI, K; ARZANLOU, M; PERTOT, I. Weeds as potential inoculum reservoir for *Colletotrichum nymphaeae* causing strawberry anthracnose in Iran and Rep-PCR Fingerprinting as useful marker to differentiate *C. acutatum* complex on strawberry. **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, v. 10, p. 1–13, 2019.

LOPES, C. A. Botânica. In: LOPES, C. A.; BUSO, J. A. (ed.). *Cultivo da batata (Solanum tuberosum L.)*. Brasília: Embrapa CNPH, 1997. 36 p. (Embrapa CNPH. Instruções Técnicas, 8).

MADEIRA, M. C. B. **Caracterização de Germoplasma de Berinjela (*Solanum melongena* L.) e Avaliação da Resistência a *Colletotrichum gloeosporioides***. 1989, 267 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade de Brasília, Brasília, 1989.

MANOVA, V; STOYANOVA, Z; RODEVA, R;BOYCHEVA, I; KORPELAINEN, H; VESTERINEN, E; WIRTA, H; BONCHEV, G. Morphological, pathological and genetic diversity of the *Colletotrichum* species, pathogenic on Solanaceous vegetable crops in Bulgaria. **Journal of Fungi**, Switzerland, v.8, p-1123, 2022.

MARIN-FELIX, Y.; GROENEWALD, J.Z.; CAI, L.; CHEN, Q.; MARINCOWITZ, S.; BARNES, I.; BENSCH, K.; BRAUN, U.; CAMPORESI, E.; DAMM, U.; DE BEER, Z.W.; DISSANAYAKE, A.; EDWARDS, J.; GIRALDO, A.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; HYDE, K.D.; JAYAWARDENA, R.S.; LOMBARD, L.; LUANGSA-ARD, J.; MCTAGGART, A.R.; ROSSMAN, A.Y.; SANDOVAL-DENIS, M.; SHEN, M.; SHIVAS, R.G.; TAN, Y.P.; VAN DER LINDE, E.J.; WINGFIELD, M.J.; WOOD, A.R.; ZHANG, J.Q.; ZHANG, Y.; CROUS, P.W. Genera of phytopathogenic fungi: GOPY 1. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 86, p. 99-216, 2017.

MEHTA, Y.R; MEHTA, A. Variabilidade genética entre isolados de *Colletotrichum gossypii* do algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Brasília, v. 36, p. 40–44, 2010.

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.

MIRANDA FILHO, H. D. S; FELTRAN, J. C. Breve histórico sobre as variedades de batata utilizadas no estado de São Paulo. **Batata Show**, São Paulo, n. 24, p. 54-60, 2009.

OLIVEIRA, B.F. **Identificação da espécie de *Colletotrichum* causadora da antracnose em jiló e avaliação do controle da doença com quitosana em pós-colheita**. 2017, 81 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) -

Universidade de Brasília, Brasília. 2017.

PATRICIA, L. C; MARÍA DEL SOCORRO, R. G; IVÁN, R. H; ERIKA, C. A; CAROLINA, S; KEIKO, S; JOSÉ ALBERTO, N. Z. Occurrence and infective potential of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates associated to Citrus limon var Eureka. **Biotechnology Reports**, Netherlands, v. 31, 2021.

PAVAN, M.A; KRAUSE-SAKATE, R; MOURA, M.F; KUROZAWA, C. **Doenças das solanáceas**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. Manual de Fitopatologia. 5a ed. Editora Agronômica Ceres :Ouro Fino. p. 677–686, 2016.

PEIXOTO, C. C; CABRAL, C. S; FONSECA, M. E. N; BOITEUX, L. S; REIS, A. Species diversity, novel interactions and absence of well-supported host-guided phylogenetic groupings of Neotropical *Alternaria* isolates causing foliar lesions in Solanaceae. **Journal of Applied Microbiology**, United Kingdom ,v.131, p. 2466-2487, 2021.

PEREIRA, R.B; PINHEIRO, J. B; ANDERSON, J; REIS, A. **Doenças e pragas do jiloeiro**. Circular técnica 106, 1ªed. Embrapa Hortaliças: Brasília, DF. 13 p, 2012.

PINHEIRO, J.B; PEREIRA, R.B; FREITAS, R.A; MELO, R.A.C. **A cultura do jiló**. Coleção plantar 75. 1ªed. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília, 2015.

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

RANIL, R. H. G; PROHENS, J; AUBRIOT, X; NIRAN, H.M.L; PLAZAS, M; FONSEKA, R. M; VILANOVA, S; FONSEKA, H.H ; GRAMAZIO, P; KNAPP, S. *Solanum insanum* L. (subgenus *Leptostemonum* Bitter, Solanaceae), the neglected wild progenitor of eggplant (*S. melongena* L.): a review of taxonomy, characteristics and uses aimed at its enhancement for improved eggplant breeding. **Genetic Resource and Crop Evolution**, Netherlands, v.64, p.1707-1722, 2017.

RASSCHAERT, G.; HOUF, K.; IMBERECHTS, H.; GRIJSPEERDT, K.; ZUTTER, L.; HEYNDRICKX, M. Comparison of five repetitive-sequence based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, Boston, v. 43, p. 3615–3623, 2005.

REFLORA – Herbário Virtual. Solanaceae. Rio de Janeiro:Jardim Botânico do Rio de Janeiro,. **Disponível em:** <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/>> Acesso em 16,maio de 2024.

REIS, A; BOITEUX, L.S; HENZ, G.P. Antracnose em hortaliças da família Solanacea. **Circular técnica** 79. 1ªed. Embrapa Hortaliças. Brasília, 2009.

REIS, A; BOITEUX, L.S; LOPES, C.A. Doenças da berinjela no Brasil. **Circular Técnica** 97, 1ªed. Embrapa Hortaliças: Brasília, DF. 18 p, 2012.

REIS, A; FONSECA, M.E.N; MARTINS, F.H.S.R; BOITEUX, L.S. Novas doenças de hortaliças causadas por espécies de *Phytophthora* no Brasil. **Circular Técnica** 173, 1ªed. Embrapa Hortaliças: Brasília, DF. 8 p, 2021.

ROE, K.E. A revision of *Solanum* Section *Brevantherum*. **Brittonia**, New York, v. 24, p. 239–278,1972.

RIBEIRO, C.C.; BRUNE, S.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. (coord.) O cultivo da berinjela (*Solanum melongena* L.). Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1998. 24p. (**Instrução Técnica** n°15).

RIBEIRO, G.H.M.R.; SAMARTINI, C.Q.; SILVA, L.F.L.; VIEIRA, S.D.; RESENDE, L.V. Cultivares. In: NICK, C.; BORÉM, A. (Eds.). **Batata: Do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2017. p. 77-93.

SABIR, S. M; ROCHA, J. B. T. Antioxidant and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Solanum fastigiatum* against paracetamol-induced liver damage in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, Ireland, v. 120, p. 226–232, 2008.

SALGON, S; JOURDA, C; SAUVAGE, C; DAUNAY, M.C; REYNAUD, B; WICKER, E; DINTINGER, J. Eggplant resistance to the *Ralstonia solanacearum* species complex involves both broad-spectrum and strain-specific Quantitative Trait Loci. **Frontiers in Plant Science**, Switzerland, v. 8, 2017.

- SALIM, M.M.R; RASHID, H.M; HOSSAIN, M.M; ZAKARIA, M. Morphological characterization of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Saudi Arabia, v. 19, p. 233–240, 2020.
- SANZO-MIRÓ, M; SIMMS, D.M; REZWAN, F.I; TERRY, L.A; CARMEN ALAMAR, M. An Integrated Approach to Control and Manage Potato Black Dot Disease: A Review. **American Journal of Potato Research**, Livonia, v.100, p.362–370, 2023.
- SEKARA, A;CEBULA, S; KUNICKI, E. Cultivated eggplants – Origin, breeding objectives and genetic resources, a review. **Folia Horticulturae**, Lisboa, v.19, p. 97–114, 2007.
- SILVA, L.L; MORENO, H.L.A; CORREIA, H.L.N; SANTANA, M.F; QUEIROZ, M.V. *Colletotrichum*: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. **Applied Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 104, p. 1891–1904, 2020.
- SILVA, L. L; BRAGANÇA, C.A.D; FERREIRA, C.F; DIAMANTINO, M.S.A.S; OLIVEIRA, S.A.S. Differentiation of lineages within “*Colletotrichum gloeosporioides* s.l.” associated with cassava anthracnose disease by BOX- and ERIC-PCRs. **Journal of Phytopathology**, United Kingdom ,v. 167, p. 218–229, 2019.
- SRINIVAS, C; DEVI, D.N; MURTHY, K.N; MOHAN, C.D; LAKSHMEESHA, T.R; SINGH, B; SRIVASTAVA, R.K. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity – a review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Saudi Arabia, v.11, p. 309– 314, 2019.
- SOARES-MOTA, M.R; SCHWARZ, A; BERNARDI, M.M; MAIORKA, P.C. SPINOSA, H.S. Toxicological evaluation of 10% *Solanum lycocarpum* St. Hill fruit consumption in the diet of growing rats: Hematological, biochemical and histopathological effects. **Experimental and Toxicologic Pathology**, Germany, v. 62, p. 549–553, 2010.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa:Instituto Plantarum, 2005. 639 pp.
- SUASTE-DZUL, A.P; VELOSO J.S; COSTA H; BOITEUX L.S; JR V. L; LOPES C.A.; REIS A. *Verticillium* diseases of vegetable crops in Brazil: Host range, microsclerotia production, molecular haplotype network, and pathogen species determination. **Plant pathology**, United Kingdom ,v. 71, n 6, 2022.
- SUTTON, B.C. **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. *Colletotrichum – Biology, Pathology and Control*. Wallingford: CAB International, 1992. p. 1-26.
- TALHINHAS, P.; SREENIVASAPRASAD, S.; NEVES-MARTINS, J.; OLIVEIRA, H. Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, p. 986-996, 2002.
- TALHINHAS P.; BARONCELLI R. Hosts of *Colletotrichum*. **Mycosphere**, Philippines, v.14, n.2, p.158-261, 2023.
- TODE, H.J. **Fungi Mecklenburgenses** Selecti, I. 1790.
- TÖFOLI, J.G; DOMINGUES, R.J; FERRARI, J.T. Antracnose em solanáceas: Etiologia, características e controle. **Biológico**, Campinas,v. 77, p. 73–79, 2015.
- TÖFOLI, J.G; DOMINGUES, R, J; ZANOTTA, S. Doenças fúngicas da batata. In: SALAS, F.J.S; TÖFOLI, J.G. (ed.). **Cultura da Batata: Pragas e Doenças**. 1. ed. São Paulo: Instituto Biológico, 2016. p. 152-206.
- TOZZE-JÚNIOR, H. J; MELLO, B. A; MASSOLA-JÚNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 77-79, 2006.
- VERSALOVIC, J.; SCHNEIDER, M.; BRUIJN, F.J.; LUPSKI, J.R. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. **Methods Molecular and Cellular Biology**, United

Kingdom ,v. 5, p. 25-40, 1994.

VILA NOVA, M.X; BORGES, L.R; SOUSA, A.C.B; BRASILEIRO, B.T.R.V; LIMA, E.A.L.A; COSTA, A.F; OLIVEIRA, N.T. Pathogenicity for onion and genetic diversity of isolates of the pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* (Phyllachoraceae)—from the State of Pernambuco, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, Brazil ,v. 10, p. 311– 320, 2011.

VIEIRA, W.A.S; LIMA, W.G; NASCIMENTO, E.S; MICHEREFF, S.J; CÂMARA, M.P.S; DOYLE, V.P. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with Musa. **Mycologia**, Bronx, v. 109, p. 912-934, 2017.

VIEIRA, W.A.S; BEZERRA, P.A; SILVA, A.C; VELOSO, J.S; CÂMARA, M.P.S; DOYLE, V.P. Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego , v. 143, p.106694, 2020.

WATURANGI, D. E; JOANITO, I; YOGI, Y; THOMAS, S. Use of REP-and ERIC-PCR to reveal genetic heterogeneity of *Vibrio cholerae* from edible ice in Jakarta, Indonesia. Gut **Pathogens**, Switzerland ,v. 4, p. 2, 2012.

WHALEN, M.D; ANDERSON, G.J. Distribution of gametophytic self-incompatibility and intrageneric classification in Solanum. **Taxon**, New Jersey, v. 30, p. 761–767, 1981.

WEESE, T; BOHS, L. A Three-gene phylogeny of the genus Solanum (Solanaceae). **Systematic Botany**, Boise, v. 32, p. 445-463, 2007.

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

ZAMBERLAN, P. M. Estudos filogenéticos e filogeográficos nos gêneros *Athenaea* sendtn. e *Aureliana* sendtn. (Solanaceae). 2012,118 f.Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2012.

CAPÍTULO II

Caracterização molecular de isolados de *Colletotrichum* associados a hortaliças do gênero *Solanum* no Brasil

Caracterização molecular de isolados de *Colletotrichum* associados a hortaliças do gênero *Solanum* no Brasil

Athaise Ferreira de Lima¹, Leonardo Silva Boiteux^{1,2}, Maria Esther de Noronha Fonseca² & Ailton Reis^{1,2}

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, 52171-000, Recife-PE;

²Embrapa Hortaliças, 70275-970, Brasília-DF.

RESUMO

O gênero *Colletotrichum* é considerado um dos dez gêneros de fungos fitopatogênicos mais importantes do mundo, causando antracnose em diversas espécies de plantas. Espécies deste gênero incluem importantes patógenos, causadores de antracnose em hortaliças da família Solanaceae, os quais provocam grandes prejuízos aos produtores destas hortaliças. Há poucos trabalhos no Brasil, tentando identificar as espécies pelo uso de ferramentas moleculares. Este trabalho objetivou a identificação de isolados de *Colletotrichum* de hortaliças solanáceas, através de filogenia de sequências de DNA., utilizando a análise concatenada dos marcadores *Gapdh* e *Tub2*. Foram identificadas espécies em quatro complexos (*Acutatum*, *Truncatum*, *Gloeosporioides* e *Coccodes*). A maioria dos isolados, utilizados no teste de patogenicidade em frutos de jiló e tomate e em plântulas de berinjela, foi capaz de causar doença, variando o na agressividade. Estes resultados evidenciam a alta diversidade de espécies de *Colletotrichum* em solanáceas no Brasil e a necessidade de medidas de manejo adequadas para controle da antracnose.

Palavras-chave: Jiló, Berinjela, Tomate, Batata, Antracnose

ABSTRACT

The genus *Colletotrichum* is considered one of the ten most important genera of phytopathogenic fungi in the world, causing anthracnose in several plant species. Species of this genus include important pathogens that cause anthracnose in vegetables of the Solanaceae family, which cause great losses to the producers of these vegetables. There are few studies in Brazil attempting to identify the species using molecular tools. This study aimed to identify *Colletotrichum* isolates from solanaceous vegetables through DNA sequence phylogeny, using concatenated analysis of the *Gapdh* and *Tub2* markers. Species were identified in four complexes (*Acutatum*, *Truncatum*, *Gloeosporioides* and *Coccodes*). Most of the isolates used in the pathogenicity test on scarlet eggplant and tomato fruits, and in eggplant seedlings were able to cause disease, varying in aggressivity. These results demonstrate the high diversity of *Colletotrichum* species in Solanaceae in Brazil and the need for appropriate management measures to control anthracnose.

Key words: Scarlet eggplant, Eggplant, Tomato, Potato, Anthracnose

1 INTRODUÇÃO

2
3 A olericultura é o ramo da horticultura que está voltado para a produção de
4 hortaliças, principalmente as que estão relacionadas à alimentação humana. Trata-se de
5 uma atividade econômica importante, gerando empregos e renda. Segundo a Conab
6 (2024), a comercialização de frutas e hortaliças gerou em 2023 o montante de R\$ 66,7
7 bilhões.

8 Dentre as olerícolas mais consumidas e comercializadas estão as pertencentes à
9 família Solanaceae, como a batata (*Solanum tuberosum*), o tomate (*Solanum*
10 *lycopersicum*), a berinjela (*Solanum melongena*), o jiló (*Solanum aethiopicum* var. *gilo*),
11 as pimentas e os pimentões (*Capsicum* spp.), estas espécies possuem grande valor
12 agrônomo e alimentar (Echeverría- Londoño *et al.*, 2020; Soares-Mota, 2010;
13 Zamberlan, 2012).

14 Ressalta-se que o sucesso no cultivo de hortaliças dessa família pode ser
15 comprometido por diversos fatores, dentre estes fatores destacam-se as doenças, devido
16 ao elevado número de patógenos (bactérias, nematoides, vírus, oomicetos e fungos) que
17 impactam diretamente tanto a produtividade quanto a qualidade dos frutos, afetando o
18 rendimento e a viabilidade econômica.

19 A antracnose, doença causada por espécies de fungos do gênero *Colletotrichum*,
20 é considerada uma das mais importantes e destrutivas doenças em solanáceas, afetando
21 principalmente as partes comercializáveis destas hortaliças, destruindo-as ou tornando-as
22 impróprias para o mercado. A sintomatologia nos frutos, manifesta-se por meio de lesões
23 geralmente circulares ou ovaladas, deprimidas, escuras, úmidas e concêntricas,
24 frequentemente cobertas por uma massa de conídios de coloração rosada ou alaranjada.
25 Já nas folhas, pecíolos, caules e tubérculos, os sintomas incluem lesões castanhas,
26 deprimidas e irregulares. Em alguns casos, pode ocorrer necroses em botões florais, flores
27 e até o ressecamento dos frutos. A ocorrência de epidemias é favorecida por condições de
28 elevada umidade e temperaturas entre 22 °C e 30 °C (Reis *et al.*, 2009; Tofoli *et al.*, 2015).

29 O gênero *Colletotrichum* possui distribuição global e estão incluídas no gênero
30 espécies patogênicas e não-patogênicas e endofíticas (Cannon *et al.*, 2012; Hyde *et al.*,
31 2009; Prihastuti *et al.*, 2009). Atualmente, são reconhecidas aproximadamente 340
32 espécies e estas estão divididas em 20 complexos de espécies: *Acutatum*; *Agaves*;
33 *Bambusicola*; *Boninense*; *Caudatum*; *Coccodes*; *Citri-medicae*; *Dematium*;
34 *Dracaenophilum*; *Destructivum*; *Gigasporum*; *Gloeosporioides*; *Graminicola*; *Magnum*;

Orbiculare; Orchidearum; Spaethianum; Tibetense; Trichellum e Truncatum (Talinhas & Baroncelli, 2023).

Inicialmente, a identificação de espécies baseava-se exclusivamente em características morfológicas (Duke, 1928; Hyde *et al.*, 2009; Cai *et al.*, 2009). Posteriormente, critérios como gama de hospedeiros e patogenicidade foram incorporados (Sutton, 1980; 1992). No entanto, essas abordagens mostraram-se limitadas, levando ao desenvolvimento de novas metodologias para a identificação, caracterização e delimitação de espécies no gênero. Uma abordagem polifásica foi então proposta, integrando diferentes tipos de dados – moleculares, morfológicos, fisiológicos, patogênicos e ambientais – para uma identificação mais precisa (Cai *et al.*, 2009). Entre essas metodologias, a filogenia multilocus tornou-se o padrão, gerando inúmeros estudos sobre a eficiência de diferentes marcadores para a identificação de espécies.

A caracterização e identificação do agente etiológico de uma doença são fundamentais para o manejo eficaz. No Brasil, os estudos realizados anteriormente a respeito das espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em batata, jiló, berinjela e tomate, atribuíram as espécies *C. acutatum*, *C. coccodes* e *C. gloesporoides* como causadoras da doença (Castilho *et al.*, 2007; Madeira, 1989; Reis *et al.*, 2009; Tofolli *et al.*, 2015; Tozze-Júnior *et al.*, 2006).

Os estudos referidos anteriormente utilizaram-se somente de caracteres morfológicos para a determinação das espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em *Solanum* spp., uma pequena quantidade de isolados e com pouca abrangência geográfica, ou os marcadores utilizados não são informativos, como os recomendados por Viera *et al.* (2020). Evidenciando assim a necessidade da identificação das espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em batata, jiló, tomate e berinjela para que se possa ter mais informações quanto a diversidade de espécies presentes nestes hospedeiros.

Dessa forma, torna-se essencial realizar investigações utilizando marcadores moleculares mais avançados para identificar de forma precisa as espécies de *Colletotrichum* associadas a batata, tomate, berinjela e jiló. O presente estudo tem como objetivos: (i) identificar as espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em batata, jiló, tomate e berinjela oriundas de diferentes estados brasileiros ; (ii) avaliar a prevalência dessas espécies; e (iii) comparar a agressividade das espécies em plântulas de berinjela e frutos de jiló e tomate.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados

Frutos, tubérculos, folhas e caules sintomáticos de batata, berinjela, tomate e jiló foram coletados em campos de cultivos e/ou centro de abastecimentos (CEASA) nas regiões, norte, nordeste, centro-oeste e sudeste do Brasil. O isolamento dos fungos foi feito de modo direto. Para isso, as massas de conídios, produzidas nas lesões, foram transferidas para uma extremidade de placas de Petri, que continham meio de cultivo Batata Dextrose Ágar -BDA acrescido de estreptomicina (50 µL/ L). Em seguida, com ajuda de uma alça de platina, os esporos foram espalhados (diluídos) em três sentidos contrários, de modo semelhante ao que se faz para obter colônias puras de bactérias. Após 24 a 48 horas de incubação, colônias isoladas (monospóricas) foram transferidas para placas de Petri, contendo BDA (Costa *et al.*, 2022). Quando não havia esporulação nas lesões, os órgãos infectados foram mantidos em câmara úmida por 48 horas, antes de proceder ao isolamento direto. Colônias com características fenotípicas semelhantes a *Colletotrichum* (Sutton 1980) foram cultivadas em cultura pura. Os isolados foram preservados em tubos criogênicos com água destilada esterilizada (Figueiredo, 1967), codificados e depositados na Coleção de fungos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Embrapa Hortaliças.

Extração de DNA, amplificação via Reação da Polimerase em cadeia (PCR) e sequenciamento

Os isolados de *Colletotrichum* foram cultivados em BDA por sete dias, a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após este período extraiu-se o DNA do micélio produzido. Os micélios foram raspados das culturas e o DNA genômico extraído usando CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) descrito por Doyle & Doyle(1990) com algumas modificações, pelo uso de solventes orgânicos. Os produtos da extração foram analisados em eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão Tris/Borato/EDT A – TBE 0,5 X (TBE). A eletroforese foi conduzida a 100 V por aproximadamente uma hora, para verificar a qualidade. O protocolo das amplificações para todos os primers foi o descrito por Damm *et al.* (2019). Os *primers* utilizados para todas as reações de PCR estão descritos na Tab 1. O volume final das reações de PCR foi de 40 µL, sendo 23,96 µL de água MiliQ, 4,0 µL de tampão 10X (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH 8.3), 4,0 µL de dNTP (2,5 M cada), 2,4 µL de MgCl₂ (MgCl₂ 50 mM), 1,0 µL de cada primer, 0,64 µL de *Taq* DNA polimerase (5 u/l) e 3,0 µL de DNA genômico. Em seguida as amostras

foram purificadas utilizando o Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, EUA). As purificações foram quantificadas no Nano Drop One® (Thermo Scientific, Massachusetts, EUA) e enviadas para a plataforma de Sequenciamento do Laboratório da ACTGENE (Rio Grande do Sul, Brasil).

Tabela 1- Primers utilizados, regiões genômicas alvo e referências.

Locus	Nome	Primer	Direção	Sequência 5'-3'	Referência
<i>Gapdh</i>	Gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase	GDF-1	F	GCCGTCAACG CCCCTTCATTGA	Templeton <i>et al.</i> (1992)
		GDR-1	R	GGGTGGAGTCGTACTTGAGCATGT	Templeton <i>et al.</i> (1992)
<i>Tub2</i>	Betatubulina	T1	R	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	O'Donnell & Cigelnik (1997)
		Bt2b	F	ACCCTCAGTGTTAGTGACCCTTGGC	Glass & Donaldson (1995)

Análises filogenéticas

As sequências consenso foram montadas a partir da junção das fitas *Foward* e *Reverse*, utilizando o pacote Staden (Staden, 1998). Inicialmente com as sequencias obtidas pelo gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase-*GAPDH*, realizou-se a comparação das sequências existentes no banco de dados *National Center for Biotechnology Information* -NCBI, com o emprego da ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool*-BLAST, para verificar a qual complexo cada isolado pertencia. Em seguida, com as sequencias parciais do *GAPDH*, identificou-se os haplótipos utilizando o DnaSP 6.0 (Rozas *et al.*, 2017).

Posteriormente selecionou-se um isolado representativo de cada haplótipo e amplificou-se o DNA da região da Betatubulina. As múltiplas sequências para cada gene individual foram alinhadas via MAFFT versão 7 com o método de refinamento iterativo G-INS-i (Kato *et al.*, 2013). Para a conversão para o formato nexus utilizou-se o SequenceMatrix 1.8 (Vaidya *et al.*, 2011). As análises filogenéticas foram realizadas pelo método de Verossimilhança (ML) para os loci individuais e concatenados. As análises foram feitas usando o Iqtree (Trifinopoulos *et al.*, 2016).

Prevalência de espécies de *Colletotrichum*

A prevalência de espécies de *Colletotrichum* em isolados de *Solanum* foi estabelecida usando a seguinte equação: $P (\%) = (N_x / N_t) \times 100$, onde P = prevalência,

Nx = número de isolado da mesma espécie e Nt = número total de isolados.

Testes de patogenicidade

Os testes de patogenicidade foram realizados em frutos de jiló e tomate e em plântulas de berinjela. Isolados representativos foram selecionados para serem testados quanto à patogenicidade. Os isolados foram cultivados em meio BDA, pelo período de sete dias, em incubadora do tipo BOD sob a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e fotoperíodo de 12 horas.

Preparo de inóculo para a inoculação em plântulas e frutos

Após os sete dias de crescimento adicionou-se a cada placa, contendo crescimento fúngico, 20 mL de água destilada e esterilizada. A superfície da colônia foi raspada com uma alça de Drigalski, em seguida realizou a dupla filtração da suspensão de conídios com gaze esterilizada. Utilizou-se em seguida a câmara de contagem do tipo Neubauer, para estimar a concentração de esporos na suspensão. Após isto, ajustou-se a suspensão para a concentração 10^6 conídios $\times \text{mL}^{-1}$, para a inoculação em plântulas, e 2×10^5 conídios/ mL^{-1} , para inoculação nos frutos.

Foram utilizados para os testes em plântulas os isolados C15, Coll 1692, Coll 1787, Coll 1690 e para os frutos acrescentou-se a estes os isolados Coll 1604, Coll 690 e Coll 1640, Coll 561, Coll 705, Coll 1785 e Tomate ind. Fruto (**Quadro 1**).

Isolado	Espécie	Hospedeiro
C15	<i>C.truncatum</i>	Berinjela
Coll 1692	<i>C.nymphaeae</i>	Berinjela
Coll 1787	<i>C.acutatum</i>	Berinjela
Coll 1690	<i>C.theobromicola</i>	Berinjela
Coll 690	<i>C.acutatum</i>	Jiló
Coll 992	<i>C.coccodes</i>	Jiló
Coll 1670	<i>C.sp</i>	Jiló
Coll 1640	<i>C.sp</i>	Jiló
Coll 561	<i>C.tamarilloi</i>	Tomate
Coll 705	<i>C.nigrum</i>	Tomate
Coll 1785	<i>C. truncatum</i>	Tomate

Tomate ind. Fruto	<i>C.truncatum</i>	Tomate
-------------------	--------------------	--------

Quadro 1 – Isolados utilizados nos testes de patogenicidade e respectivos hospedeiros.

Teste de patogenicidade em plântulas de berinjela, e em frutos de tomate e jiló

Foram utilizadas quatro cultivares de berinjela CNPH 06, CNPH 791, Ciça (F1) e Ciça (população segregante F2), estas foram semeadas em bandejas e a inoculação ocorreu aos 14 dias após as plântulas possuírem a primeira folha verdadeira completamente formada ou em formação, ou seja, aos 29 dias após a semeadura. As plântulas foram pulverizadas com a suspensão de conídios até que houvesse o escorrimento da mesma. E em seguida mantidas em câmara úmida pelo período de 24 horas. As avaliações ocorreram aos quatro e sete dias após a inoculação com auxílio de uma escala diagramática (Fig 1) elaborada por Madeira (1989).

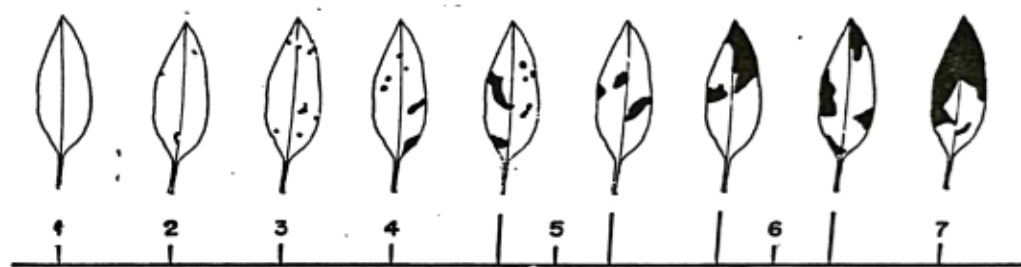


Fig 1- Escala para a avaliação de área necrosada em cotilédones de berinjela. Área necrosada (AN) de cotilédones de berinjela, onde 1 = 0 % (AN); 2 = 1% (AN); 3 = 2% (AN), 4 = 5% (AN); 5 = 10 % (AN); 6 = 25% (AN); 7 = acima de 60% (AN).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado sendo: quatro isolados de *Colletotrichum* x quatro cultivares e 15 repetições, acrescida da testemunha (plantas tratadas somente com água destilada e esterilizada).

Os frutos de jiló (Cv. 'Verde Claro') e tomate (tipo Italiano) foram obtidos no Ceasa – Distrito Federal. Os frutos de jiló estavam verdes e os de tomate em início da maturação. Estes foram levados ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa- Hortaliças. Inicialmente, os frutos foram selecionados, quanto à uniformidade de tamanho e cor. Em seguida, foram lavados em água corrente, desinfestados com a solução NaOCl a 0,5 % por três minutos e posteriormente enxaguados em água destilada por duas vezes. Os frutos desinfestados foram depositados em bandejas plásticas, feridos com auxílio de uma agulha de metal de 1,25 mm e sobre este ferimento depositou-se, com auxílio de uma pipeta, 15 µL da suspensão de conídios. Os frutos inoculados foram mantidos em câmara

úmida pelo período de 24 horas. Realizou-se a medição do diâmetro da lesão a cada 24 horas com o auxílio de um paquímetro eletrônico (em dois sentidos ortogonais) e a incidência foi mensurada ao sétimo dia após a inoculação. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado sendo: dez isolados de *Colletotrichum* x uma cultivar e dez (10) repetições acrescidas da testemunha onde a inoculação foi realizada com ferimento e a deposição de 15 µL de água destilada.

Análise estatística

Os diâmetros das lesões dos frutos de tomate e jiló foram submetidos a ANOVA e posteriormente ao teste de Tukey pelo programa SISVAR (Ferreira, 2011) com a significância de $p=0,05$.

As plântulas de berinjela foram avaliadas com auxílio de escala diagramática (Figura 1) e posteriormente obteve-se o índice de doença, de acordo com McKinney (1923).

$$ID(\%) = \sum \frac{(f * v)}{(n * x)} \times 100$$

Onde: ID = índice de doença; f = número de cotilédones que apresentam determinada nota, v = grau de infecção; n = número total de cotilédones avaliados e x = grau máximo de infecção determinado pela escala.

RESULTADO

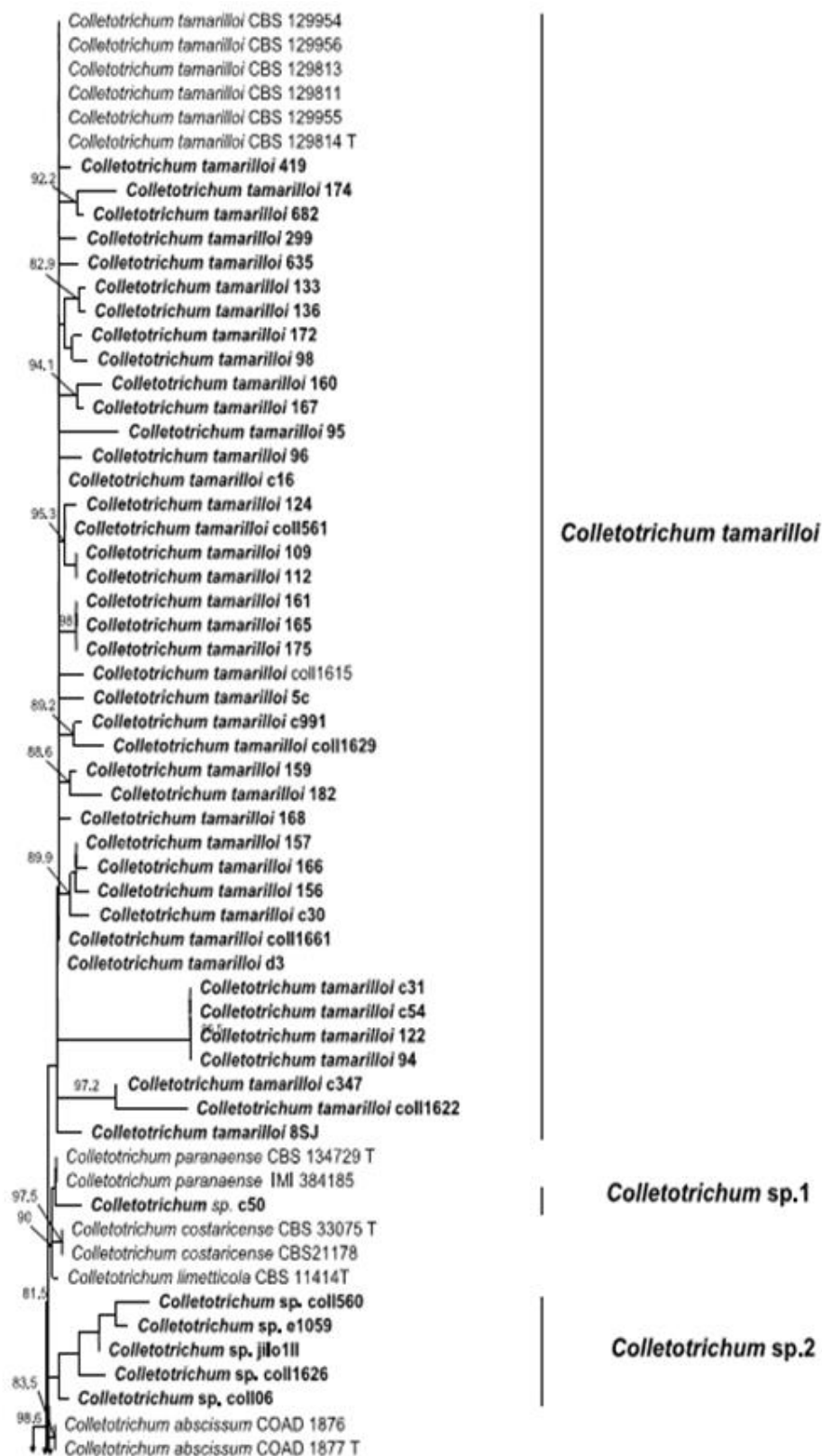
Obtenção de Isolados

No total foram obtidos 77 isolados de *Colletotrichum* a partir de lesões típicas em batata, tomate, jiló e berinjela: foram coletados 54 isolados na região Centro-oeste (38 Distrito Federal e 16 de Goiás), 13 isolados na região sudeste (9 de Minas Gerais, 3 do Rio de Janeiro e 1 do Espírito Santo), 9 isolados da região nordeste (8 de Pernambuco e 1 do Ceará) e 1 isolado da região norte (Rondônia).

Análises filogenéticas

A análise filogenética das sequências de *Gadph*, os isolados se agruparam em 4

complexos de espécies (*Acutatum*, *Coccodes*, *Truncatum* e *Gloesporioides*). Sendo assim, realizou-se a análise concatenada utilizando sequências das regiões *Gapdh* e *Tub2* para os complexos *Acutatum*, *Coccodes* e *Truncatum* Fig 2, Fig 3 e Fig 4, respectivamente.



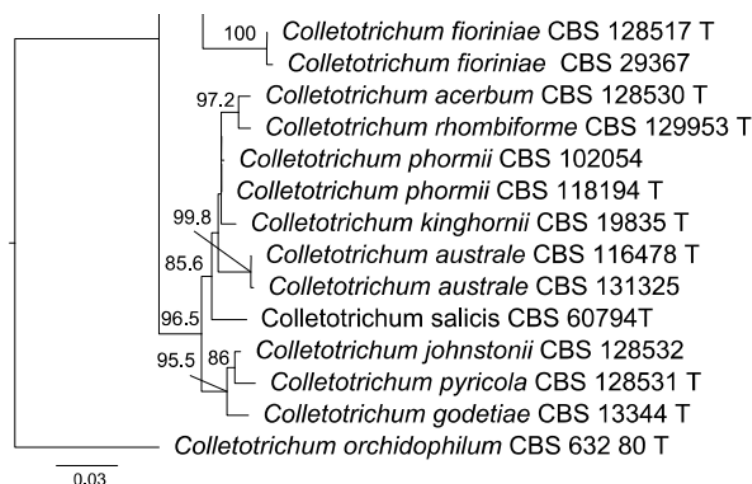


Fig 2- Árvore de máxima verossimilhança de isolados do complexo *Colletotrichum acutatum* com base nas sequências de dois genes (*Gapdh* e *Tub2*). As relações filogenéticas são comparadas aos demais membros do complexo. *Colletotrichum orchidophilum* foi utilizado como *outgroup*. Os isolados deste estudo estão destacados em negrito.

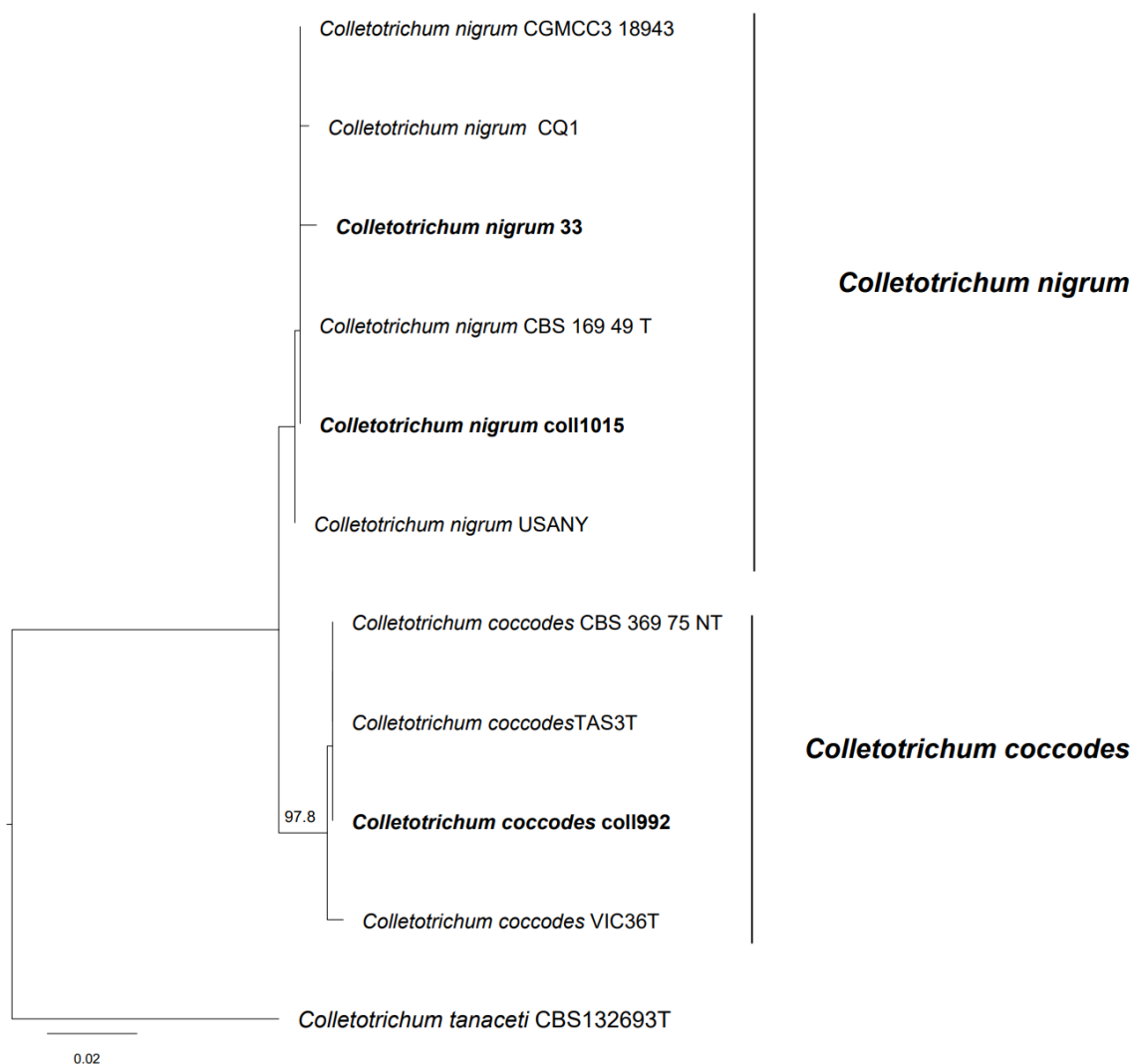


Figura 3- Árvore de máxima verossimilhança de isolados do complexo *Colletotrichum coccodes* com base nas sequências de dois genes (*Gapdh* e *Tub2*). As relações filogenéticas são comparadas aos demais membros do complexo. *Colletotrichum tanacetii* foi utilizado como *outgroup*. Os isolados deste estudo

estão destacados em negrito.

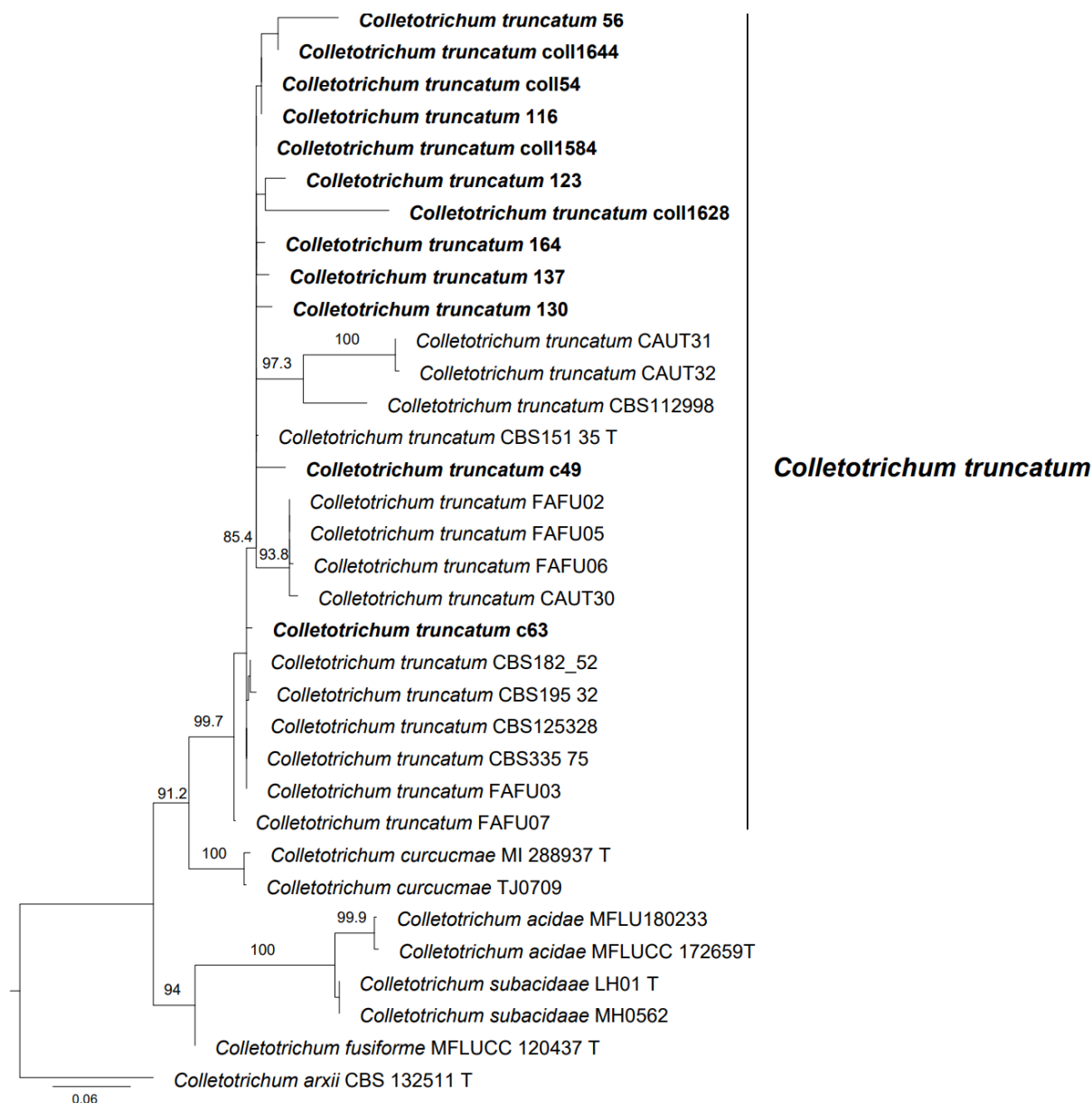


Figura 4- Árvore de máxima verossimilhança de isolados do complexo *Colletotrichum truncatum* com base nas sequências de dois genes (*Gapdh* e *Tub2*). As relações filogenéticas são comparadas aos demais membros do complexo. *Colletotrichum arxii* foi utilizado como *outgroup*. Os isolados deste estudo estão destacados em negrito.

Para o complexo *Gloesporioides* a filogenia foi feita baseada apenas em sequências do gene *Gapdh*, (Fig 5), pois o sequenciamento de outras regiões genômicas não foi bem-sucedido, gerando sequências de má qualidade, as quais não puderam ser usadas nas análises filogenéticas. Tab2.

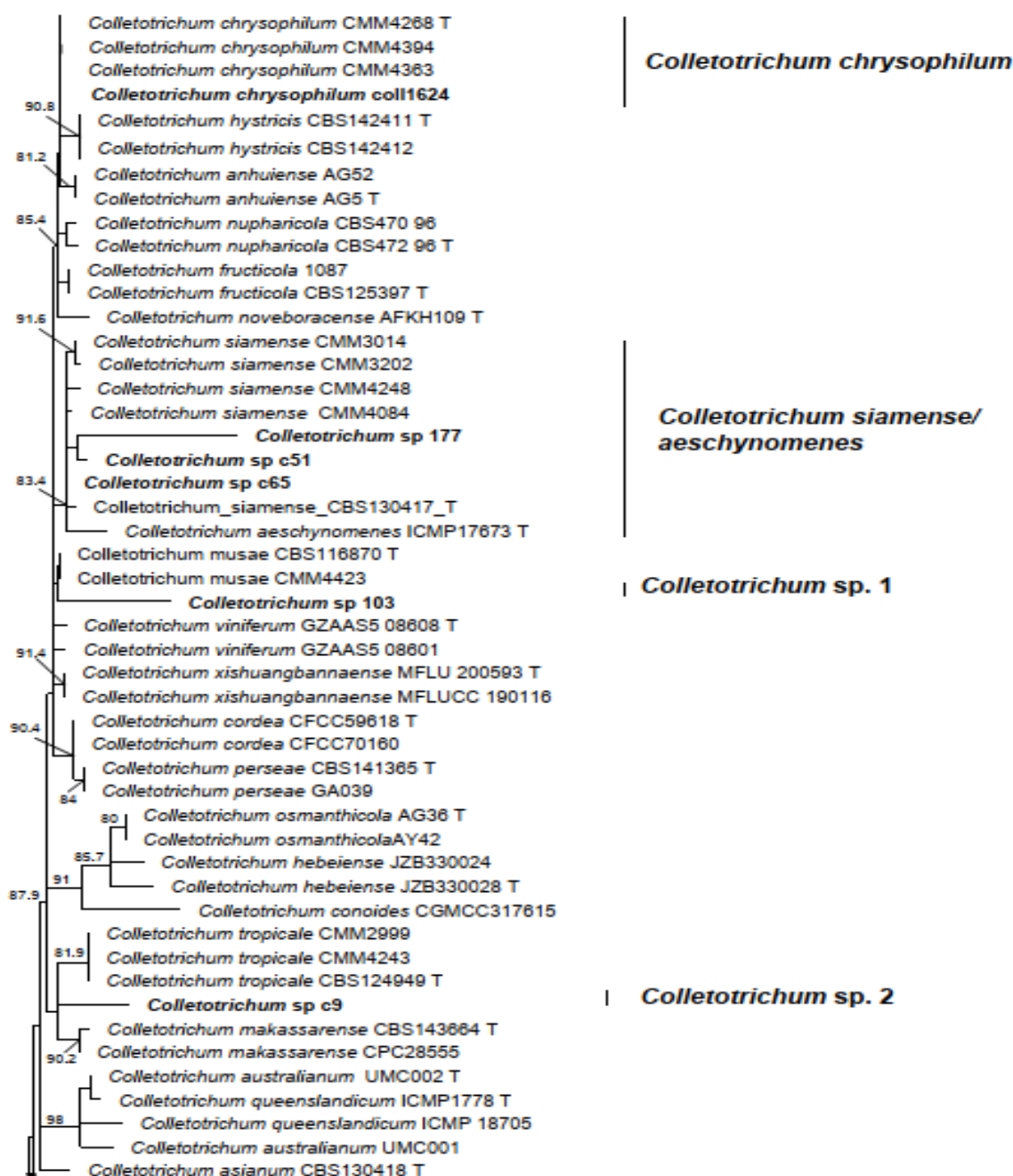


Figura 5 Árvore de máxima verossimilhança de isolados do complexo *Colletotrichum gloesporioides* com base nas sequências de dois genes (*Gapdh* e *Tub2*). As relações filogenéticas são comparadas aos demais membros do complexo. *Colletotrichum opyrifoliae* foi utilizado como *outgroup*. Os isolados deste estudo estão destacados em negrito.

Tab2 – Isolados de espécies de *Colletotrichum* em espécies de Solanaceae, hospedeiras originais, órgão afetado, local de coleta e espécie identificada na amostra.

Isolado	Hospedeira original	Órgão afetado	Localidade	Espécie de <i>Colletotrichum</i>
33 (Coll 705)	Tomate	Fruto	Luziânia-GO	<i>C. nigrum</i>
Coll 1015	Tomate	Fruto	Gama-DF	<i>C. nigrum</i>
Coll 992	Jiló	Fruto	Samambaia-DF	<i>C. coccodes</i>
103 (Coll 1640)	Jiló	Folha	Novo Gama-GO	<i>C. sp</i>
C65 (Coll 1689)	Berinjela	Caule	Brazlândia-DF	<i>C.siamense</i>

C51 (Coll 1695)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C.siamense</i>
177 (Coll 1524)	Tomate	Fruto	São Gabriel-GO	<i>C.siamense</i>
Coll 1624	Jiló	Fruto	Formosa-GO	<i>C. crysophilum</i>
C9 (Coll 1673)	Tomate	Fruto	Petrolina-PE	<i>C. sp</i>
C27 (Coll 1687)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C.theobromicola</i>
C68 (Coll 1690)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. theobromicola</i>
C69 (Coll 1693)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. theobromicola</i>
118(Coll MG-12)	Jiló	Fruto	Raul Soares- MG	<i>C.theobromicola</i>
C49 (Coll 1708)	Berinjela	Fruto	Ceilândia-DF	<i>C. truncatum</i>
C63 (Coll 1694)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. truncatum</i>
130 (1785)	Tomate	Fruto	Araguari-MG	<i>C. truncatum</i>
123 (C15)	Berinjela	Fruto	Nova Veneza-GO	<i>C. truncatum</i>
116 (Coll 1611)	Jiló	Folha	Ceilândia-DF	<i>C. truncatum</i>
137 (Coll 1662)	Jiló	Folha	Ceilândia-DF	<i>C. truncatum</i>
Coll 54	Tomate	Fruto	Taguatinga-DF	<i>C. truncatum</i>
164 (Coll 1672)	Tomate	Fruto	Petrolina-PE	<i>C. truncatum</i>
56(4SJ)	Jiló	Fruto	Recife-PE	<i>C. truncatum</i>
Coll 1628	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. truncatum</i>
Coll 1644	Jiló	Folha	Novo Gama-GO	<i>C. truncatum</i>
Coll 1584	Tomate	Fruto	Porto Velho-RO	<i>C. truncatum</i>
C52 (Coll 1692)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. nymphaeae</i>
C60 (1711)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. nymphaeae</i>
C50 (Coll 1688)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. sp</i>
C31 (Coll 1681)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. tamarilloi</i>
C71 (Coll 1687)	Berinjela	Ramo	Brazlândia-DF	<i>C.nymphaeae</i>
Coll 1661	Jiló	Fruto	Ceilândia-DF	<i>C. tamarilloi</i>
168 (Coll 670)	Jiló	Fruto	Ponte Alta- DF	<i>C. tamarilloi</i>
182 (Coll tomate)	Tomate	Fruto	Gama-DF	<i>C. tamarilloi</i>
133 (Coll 1663)	Jiló	Fruto	Novo Gama-GO	<i>C. tamarilloi</i>
124 (C345)	Jiló	Fruto	Bom Jardim-RJ	<i>C. nymphaeae</i>
95 (Coll 1689)	Berinjela	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. tamarilloi</i>
96 (Coll 276)	Jiló	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. tamarilloi</i>
174 (Coll 1671)	Tomate	Fruto	Petrolina PE	<i>C. tamarilloi</i>
Coll 682	Jiló	Fruto	Igarapé-MG	<i>C. tamarilloi</i>
C16 (Coll 1680)	Jiló	Fruto	Brazlândia-DF	<i>C. tamarilloi</i>
D1	Tomate	Fruto	Gama-DF	<i>C. scovillei</i>
136 (MG 25)	Jiló	Fruto	Raul Soares-MG	<i>C. tamarilloi</i>
419 (Coll 1746)	Jiló	Fruto	Lagoa Dourada-MG	<i>C.tamarilloi</i>
C54 (Coll 1710)	Berinjela	Fruto	Ceilândia-DF	<i>C. tamarilloi</i>
Coll 1661	Jiló	Fruto	Novo Gama-GO	<i>C. tamarilloi</i>
Coll 1615	Jiló	Fruto	Planaltina-DF	<i>C.tamarilloi</i>
152 (Coll 1640)	Jiló	Folha	Novo Gama-GO	<i>C. acutatum</i>
117 (Coll 690)	Jiló	Fruto	Venda N. Imigrante-ES	<i>C. acutatum</i>
Coll1606	Jiló	Fruto	Vargem Bonita-DF	<i>C. acutatum</i>
15 (Coll 04)	Batata	Tubérculo	Gama-DF	<i>C. acutatum</i>
145	Tomate	Fruto	São Gabriel-GO	<i>C. acutatum</i>
155 (Coll 1787)	Berinjela	Pedúnculo	Gama-DF	<i>C. acutatum</i>
C347	Jiló	Fruto	Bom Jardim-RJ	<i>C. tamarilloi</i>
Coll 06	Jiló	Fruto	Bragança-SP	<i>C. sp</i>
Coll 1622	Jiló	Fruto	Planaltina-GO	<i>C. tamarilloi</i>
Coll 1626	Jiló	Fruto	Formosa-GO	<i>C. sp</i>
Coll 560	Jiló	Fruto	Tianguá-CE	<i>C.sp</i>
Jiló1II	Jiló	Fruto	Arandú-PE	<i>C. sp</i>
8SJ	Jiló	Fruto	Recife-PE	<i>C. tamarilloi</i>
109 (Coll 1644)	Jiló	Fruto	Novo Gama-GO	<i>C. tamarilloi</i>

112 (Coll 1628)	Jiló	Fruto	Formosa–GO	<i>C. tamarilloi</i>
C991	Jiló	Fruto	Samambaia–DF	<i>C. tamarilloi</i>
Coll 1629	Jiló	Fruto	Formosa–GO	<i>C. tamarilloi</i>
299	Jiló	Fruto	São Joaquim de Bicas–MG	<i>C. tamarilloi</i>
635 (Coll 1497)	Jiló	Fruto	Chã Grande–PE	<i>C. tamarilloi</i>
172 (Coll 670)	Jiló	Fruto	Ceilândia–DF	<i>C. tamarilloi</i>
98 (Coll 1640)	Jiló	Fruto	Brazlândia–DF	<i>C. tamarilloi</i>
167 (Coll 1584)	Jiló	Fruto	Raul Soares–MG	<i>C. tamarilloi</i>
159 (Coll 1661)	Jiló	Fruto	Brasília–DF	<i>C. tamarilloi</i>
165 (MG28)	Jiló	Fruto	Raul Soares–MG	<i>C. tamarilloi</i>
175 (Coll 1614)	Jiló	Fruto	Brasília–DF	<i>C. tamarilloi</i>
122 (Jiló2)	Jiló	Fruto	Recife–PE	<i>C. tamarilloi</i>
94 (c346)	Jiló	Fruto	Bom Jardim–RJ	<i>C. tamarilloi</i>
157 (Coll 301)	Jiló	Fruto	São Gabriel–GO	<i>C. tamarilloi</i>
166 (Coll 956)	Jiló	Fruto	Ceilândia–DF	<i>C. tamarilloi</i>
156 (Coll 265)	Jiló	Fruto	Cascalho Rico–MG	<i>C. tamarilloi</i>
C30 (Coll 776)	Jiló	Fruto	Inhapim–MG	<i>C. tamarilloi</i>
Coll 561	Jiló	Fruto	Planaltina–DF	<i>C. tamarilloi</i>

Prevalência de espécies de *Colletotrichum*

As espécies identificadas apresentam diferentes prevalências, sendo *C. tamarilloi* a mais prevalente com (51,95 %), seguida de *C. acutatum* (7,79%), *C. theobromicola* (5,19%), *C. siamense* (3,90%) *C. nigrum* (2,6 %) e *C. coccodes*, *C. scovillei* e *C. crysophilum* (1,30%). Para berinjela e tomate a espécie que apresentou maior prevalência foi *C. truncatum* (28,58% e 40%) respectivamente. P, para batata *C. acutatum* (100%) e jiló *C. tamarilloi* (76,74%).

Teste de patogenicidade em plântulas de berinjela, frutos de tomate e jiló

Todos os isolados testados em plântulas de berinjela foram capazes de causar antracnose em uma ou mais cultivares testadas. Exceto em CNPH 006, pois a mesma apresenta resistência aos isolados testados (Tab 3). Para os testes em frutos de tomate observou-se que todos os isolados foram capazes de causar antracnose em diferentes intensidades, os isolados utilizados nos testes de patogenicidade foram capazes de causar antracnose nos frutos de tomate sendo possível observar em todos os tratamentos a formação de lesão necrótica circular com a coloração marrom-escura e a presença de tecido deprimido no centro destas lesões, onde foi produzida uma massa conidial, sendo o isolado Coll 1785 da espécie *C. truncatum* o mais agressivo (Tab4), nos frutos de jiló observou-se que somente três isolados testados foram capazes de causar doença e o isolado Coll 992 identificado como *C. coccodes* o mais agressivo (Tab 5). Nenhum sintoma foi observado nas testemunhas utilizadas. Como ilustrado nas Fig 6 e 7.

Tab 3- Severidade da antracnose (índice de doença), causada por isolados de *Colletotrichum* em plântulas de berinjela aos quinze dias após inoculação.

Isolado	Cultivar	Índice (%)
C15	Ciça (F2)	65
Coll 1787	Ciça (F2)	94
Coll 1690	Ciça (F2)	14
Coll 1692	Ciça (F2)	25
Testemunha	Ciça (F2)	0
C15	Ciça (F1)	22
Coll 1787	Ciça (F1)	47
Coll 1690	Ciça (F1)	20
Coll 1692	Ciça (F1)	0
Testemunha	Ciça (F1)	0
C15	CNPH 06	0
Coll 1787	CNPH 06	0
Coll 1690	CNPH 06	0
Coll 1692	CNPH 06	0
Testemunha	CNPH 06	0
C15	CNPH 791	62
Coll 1787	CNPH 791	95
Coll 1690	CNPH 791	24
Coll 1692	CNPH 791	13
Testemunha	CNPH 791	0

Tab 4- Diâmetro médio de lesões em frutos de tomate, causadas por isolados de *Colletotrichum*, aos seis dias após inoculação.

Isolado	Diâmetro médio (mm)*	Diâmetro médio (mm)**
Testemunha	0a	0 a
Coll 561	12,11 a	3,75b
Coll 705	16,55 a	4,13 bc
Tomat ind.fruto	16,65 a	4,18 bc
Coll 1785	24,97 a	4,97 d
CV (%)	43,01	19,30

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05 de probabilidade). *Dados não transformados, ** Dados transformados aplicando Raiz quadrada de $Y + 1.0 - \text{SQRT} (Y + 1.0)$.

Tab 5- Diâmetro médio de lesões em frutos de jiló, causadas por isolados de *Colletotrichum*, seis dias após inoculação.

Isolado	Diâmetro médio (mm)*	Diâmetro médio (mm)**
Testemunha	0a	0 a
Coll 1670	0a	0a
C15	0a	0a
Coll 1640	0a	0a
Coll 1690	16,44b	4,02b
Coll 1787	24,65c	4,93c
Coll 992	26,19c	5,11c

CV (%)	27,14	12,20	303
--------	-------	-------	-----

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey (0,05 de probabilidade). *Dados não transformados, ** Dados transformados aplicando Raiz quadrada - SQRT (Y).



Fig 6- Antracnose em frutos de tomate aos seis dias após inoculação com isolados de *Colletotrichum* da Coleção Micológica do CNPH-Embrapa Hortaliças.



Fig7- Antracnose em frutos de jiloeiro aos sete dias após inoculação com isolados de *Colletotrichum* da Coleção Micológica do CNPH-Embrapa Hortaliças.

Discussão

Este estudo relata a presença de quatro complexos distintos de *Colletotrichum* (*Acutatum*, *Truncatum*, *Coccodes* e *Gloesporioides*) associados a antracnose em batata, tomate, jiló e berinjela no Brasil. Foram identificadas 10 espécies distintas, distribuídas

da seguinte forma: no complexo *Acutatum* foram identificadas as espécies *C. acutatum*, *C. nymphaeae*, *C. scovillei* e *C. tamarilloi*; no complexo *Coccodes* foram identificadas as espécies *C. coccodes* e *C. nigrum*; no complexo *Truncatum* somente a espécie *C. truncatum* e no complexo *Gloesporioides* as espécies *C. siamense*, *C. crysophilum* e *C. theobromicola*. Isto evidencia uma alta diversidade de espécies de *Colletotrichum* associadas às olerícolas do gênero *Solanum*. Essa diversidade pode estar diretamente relacionada ao clima tropical, uma vez que um dos principais centros de origem e diversidade do gênero *Solanum* é a América do Sul. Outros estudos evidenciam esta correlação entre o clima tropical presente no Brasil e a diversidade de espécies de *Colletotrichum* em diversas hospedeiras (Lima *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2021; Veloso *et al.*, 2021; Vieira *et al.*, 2014, 2017).

Estudos anteriores relataram as espécies *C. gloesporioides*, *C. acutatum*, *C. dematium* e *C. coccodes* como agentes causais da antracnose em tomate, *C. gloesporioides* e *C. coccodes* como responsáveis pela doença em berinjela, *C. acutatum*, *C. tamarilloi* e *C. gloesporioides* em jiloeiros. Vale ressaltar que apesar de muito importante nas regiões de cultivo em climas temperados a antracnose ou *Potato black dot disease*, é uma doença secundária no Brasil. Nas regiões temperadas do mundo as espécies *C. coccodes* e *C. nigrum* já foram relatadas como agentes causais da doença. Porém, no Brasil, há somente relatos da presença de *C. coccodes* em campos de cultivo de batata (Alexandre *et al.*, 2014; Bueno & Massola-Júnior, 2006; Castilho *et al.*, 2007; Fernandes *et al.*, 2001; Pereira, 1995; Manova *et al.*, 2022; Madeira, 1989; Reis *et al.*, 2009; Tofolli *et al.*, 2015; Tozze-Júnior *et al.*, 2006).

Os estudos, mencionados anteriormente, tem a uma limitação pois a maioria se baseia exclusivamente em caracteres morfológicos para a identificação das espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em *Solanum*. Além disso, utilizaram um número limitado de isolados, com pouca abrangência geográfica. Os que empregaram marcadores moleculares, usaram marcadores pouco informativos, como apontado por Vieira *et al.* (2020). Isso ressalta a necessidade de identificar as espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em batata, jiló, tomate e berinjela, visando ampliar o conhecimento sobre a diversidade dessas espécies nos respectivos hospedeiros.

A diversidade de espécies identificada nesse estudo confirma a necessidade de se utilizar marcadores informativos para cada complexo, uma vez que, os estudos anteriores não identificaram as diferentes espécies que causam antracnose em hortaliças do gênero *Solanum*. Nos estudos anteriores já havia evidências de que *C. acutatum* seria um dos responsáveis por causar antracnose em tomate e jiló, porém, devido ao uso de somente

identificação baseada em caracteres fenotípicos e/ ou marcadores não informativos , não foi possível identificar as diferentes espécies desse complexo que foram identificadas neste estudo (*C. acutatum*, *C.scovillei*, *C.tamarilloi* e *C.nympheae*). O emprego dos marcadores *Gapdh* e *Bet2*, identificou a espécie *C. acutatum* como agente causal da antracnose em batata, sendo que anteriormente a doença era atribuída apenas a *C. coccodes*. A antracnose em berinjela anteriormente era atribuída as espécies *C. gloesporioides* e *C. coccodes*. Porém, identificamos nesse trabalho uma alta diversidade de espécies como (*C. nympheae*, *C. truncatum*, *C. siamense*, *C.theobromicola* e *C.tamarilloi*). Em tomate a antracnose era atribuída a *C. coccodes* , *C. gloesporioides* e *C. acutatum*, mas neste estudo identificamos as espécies *C. siamense*, *C. truncatum*, *C. nigrum* e *C. scoville*. Em jiló confirmou-se que a espécie com maior prevalência é *C.tamarilloi*, porém foram encontradas as espécies *C. coccodes*, *C. truncatum* e *C. acutatum*. Esta diversidade de espécies alerta para necessidade de utilização de marcadores mais informativos para uma identificação precisa das espécies, conforme indicado por Cai *et al.* (2009). Atualmente, diversos estudos oferecem diretrizes para a identificação de espécies de *Colletotrichum* por meio de uma abordagem polifásica, além de recomendar os conjuntos de marcadores mais adequados para serem incluídos em análises filogenéticas (Cai *et al.*, 2009; Vieira *et al.*, 2017, 2020).

Colletotrichum tamarilloi apresentou a maior prevalência, devido a maioria dos isolados desta espécie estar associada à frutos de jiló e por ser desta espécie a maioria dos isolados coletados. Em seguida a espécie *C. truncatum* é a segunda maior prevalência e apresenta distribuição uniforme de seus isolados em tomate, jiló e berinjela.

A maioria dos isolados da espécie *C. tamarilloi* foi detectada em frutos de jiló, sendo esta espécie originalmente descrita como o agente casual da antracnose no tamarillo (*Solanum betaceum*), com relatos de ocorrência na Colômbia e Equador (Caicedo *et al.*, 2017; Damm *et al.*, 2012; Pardo-De La Hoz *et al.*, 2016). Esta espécie já foi relatada no Brasil como sendo a responsável pela antracnose do jiloeiro (Alexandre *et al.*, 2014, Oliveira *et al.*, 2023). A espécie *C. tamarilloi* é polífaga e já tendo sido relatada causando antracnose em várias hospedeiras no Brasil como a cebola (Lopes *et al.*, 2021) e a seringueira (Magalhães *et al.*, 2021). Talinhas & Baroncelli (2021), apontam que há indícios que *C. tamarilloi* seja específica ao hospedeiro, porém na América do Sul essa espécie tem sido relatada em várias hospedeiras.

Por sua vez, a espécie *C. acutatum* já foi descrita em diversos hospedeiros ao redor do globo terrestre como mamão, leguminosas, goiaba, morango, café e em tomate (Damm *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2022). No Brasil já foi registrada espécies do complexo em cebola

(Lopes *et al.*, 2021), citrus, tomate e jiló (Gama *et al.*, 2020; Tofolli *et al.*, 2015).

C.coccodes causa antracnose em diversas famílias botânicas, porém se destaca como sendo um dos principais patógenos das solanáceas sobretudo tomate e batata (Liu *et al.*, 2011). Há relatos da presença deste patógeno em diferentes regiões do globo terrestre (Çakır *et al.*, 2019; Pérez-Mora *et al.*, 2020; Yarmeeva *et al.*, 2023). No Brasil há relatos de *C. coccodes* causando antracnose em solanáceas, todavia, estes relatos são baseados apenas em dados de morfologia (Tofolli *et al.*, 2015).

Diversas espécies de *Colletotrichum* já foram descritas como agentes causais da antracnose no **tomateiro** no mundo. Essa é uma importante doença que causa podridão nos frutos, mas também afeta folhas e raízes. *Colletotrichum coccodes* e *C. nigrum* são consideradas as espécies mais prevalentes, porém há uma crescente adição de espécies do complexo *Acutatum* associadas a essa doença como *C. acutatum*, *C. fioriniae*, *C. nymphaea*, *C. godetiae* entre outras (Chechi *et al.*, 2019; Manova *et al.*, 2022). Há relatos de *C. truncatum* e *C. cigarro* em tomate (Manova *et al.*, 2022; Shahriar *et al.*, 2023).

Para a **batata** o principal agente causal da antracnose prevalece sendo o *C. coccodes* (Liu *et al.*, 2011). Para a **berinjela** os principais agentes causais são *C. truncatum* e *C. siamense* (Hyde *et al.*, 2018; Sato *et al.*, 2015) *C. fioriniae* (Xu *et al.*, 2018) e *C. coccodes* (Manova *et al.*, 2022). Para o **jiló** a principal espécie relatada é *C. tamarilloi* (Alexandre *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2023).

Por se tratarem de frutos climatéricos, jiló e tomate continuam o amadurecimento mesmo separado da planta, durante o processo de amadurecimento os frutos sofrem diversas alterações fisiológicas como a ativação da biossíntese do etileno, alterações na cutícula como o afrouxamento da parede celular. Tais processos são diretamente proporcionais ao declínio da produção dos compostos antifúngicos, o que facilita a colonização pelos patógenos (Prusky *et al.*, 2013). Os isolados pertencem todos ao mesmo gênero, porém as estratégias de infecção podem ser diferentes ou alguns isolados podem vir a necessitar de um maior tempo para desenvolvimento das suas estruturas especializadas.

Segundo Madeira (1989), *Colletotrichum* pode causar doença em berinjela em qualquer idade, podendo causar em plântulas tombamentos e lesões foliares. Quando se observa os dados obtidos via patogenicidade das plântulas de berinjela nota-se que o maior índice de doença foi causado pelo isolado Coll 1787 na cultivar CNPH 791 (95%). Este isolado também foi altamente agressivo na população F₂ de Ciça, causando um índice de doença de 94%. Os índices de doença na cultivar Ciça (F₁) permaneceram

moderados quando inoculada com os isolados testados. A cultivar CNPH 06, apresentou 0 % de doença, tal como as testemunhas, confirmando sua resistência à antracnose.

Os isolados de *Colletotrichum* spp. foram reisolados dos frutos sintomáticos e suas características de colônia e morfologia de estruturas reprodutivas corresponderam com as da cultura original, completando os postulados de Koch.

Conclusão

Nosso estudo contribui para o entendimento da diversidade de espécies de *Colletotrichum* associadas a culturas de batata, tomate, jiló e berinjela em diferentes estados brasileiros, utilizando análises filogenéticas baseadas nos marcadores *Gapdh* e *Bet2*. Foram identificadas espécies pertencentes a diferentes complexos (*Acutatum*, *Truncatum*, *Gloeosporioides* e *Coccodes*), com destaque para *Colletotrichum tamarilloi*, que apresentou a maior prevalência, especialmente em frutos de jiló. *Colletotrichum truncatum* foi a segunda espécie mais prevalente, com uma distribuição uniforme entre tomate, jiló e berinjela. Em termos de agressividade, *C. truncatum* (isolado 1785) destacou-se em frutos de tomate, enquanto *C. coccodes* (isolado Coll 992) foi mais agressivo em jiló. Já em plântulas de berinjela, o isolado 1787 de *C. truncatum* apresentou maior severidade na cultivar Ciça F2. Esses resultados reforçam a importância do monitoramento e identificação de espécies de *Colletotrichum* para o manejo eficiente dessas culturas.

REFERÊNCIAS

- Alexandre ER, Herculano LM, Silva JM, Oliveira SMA (2014) Fosfitos no manejo da antracnose do jiló. Pesquisa Agropecuária Brasileira 49: 930–938.
- Bueno CRNC, Massola Júnior NS (2006). Inoculação cruzada de isolados de *Colletotrichum acutatum* e *Colletotrichum gloeosporioides* em hortaliças solanáceas. Summa Phytopathologica. 32: 31-32.
- Cai L, Hyde KD, Taylor PWJ, Weir BS, Waller JM, Abang MM, Zhang JZ, Yang YL, Phoulivong S, Liu ZY, Prihastuti H, Shivas R G, McKenzie EHC, Johnston, PR (2009) A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. Fungal Diversity 39: 183–204.
- Çakır E, Karahan A, Kurbetli İ (2019) Involvement of *Colletotrichum coccodes* causing atypical symptoms of potato tubers in Turkey. Journal of Plant Disease Protection 126:173–176.
- Caicedo JD, Lalangui KP, Pozo AN, Cevallos PA, Arahana VS, Méndez KS (2017) Multilocus molecular identification and phylogenetic analysis of *Colletotrichum tamarilloi* as the causal agent of tamarillo (*Solanum betaceum*) anthracnose in the Ecuadorian highlands. European Journal of Plant Pathology 148: 983–996.
- Cannon PF, Damm U, Johnston, PR, B.S. Weir BS (2012) *Colletotrichum*: Current status and future directions. Studies in Mycology 73: 181–213.
- Castilho LB, Reis A, Henz GP (2007). Identificação Morfométrica de Isolados de *Colletotrichum* spp.

- Causadores de Antracnose em Solanáceas. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. 29:1-14.
- Chechi A, Stahlecker J, Zhang M, Luo CX, Schnabel G. (2019b) First Report of *Colletotrichum fioriniae* and *C. nymphaeae* causing anthracnose on cherry tomatoes in South Carolina. Plant Disease 103:1042.
- CONAB- Comercialização Total de Frutas e Hortaliças. Brasília: COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Disponível em:** <<https://www.conab.gov.br/info-agro/hortigranjeiros-proho>> Acesso em : 22, outubro de 2024.
- Costa CA, Júnior VL, Santiago MF, Veloso JS, Reis A (2022). Molecular phylogenetic, morphological, and pathogenic analyses reveal a single clonal population of *Septoria lycopersici* with a narrower host range in Brazil. Plant Pathology.71: 621-633.
- Damm, U.; Cannon, P.F.; Woudenberg, J.H.C.; Crous, P. W. (2012) The *Colletotrichum acutatum* species complex. Studies in Mycology 73: 37–113.
- Damm U, Sato T, Alizadeh A, Groenewald JZ, Crous PW (2019) The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. Studies in Mycology. 92: 1–46.
- Duke, MM (1928).The genera *Vermicularia* Fr. and *Colletotrichum* Cda. *Transactions of the British Mycological*. 13:156–184.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
- Echeverría-Londoño S, Särkinen T, Fenton IS, Purvis A, Knapp S (2020) Dynamism and context-dependency in diversification of the megadiverse plant genus *Solanum* (Solanaceae). Journal of Systematics. 58: 767–782.
- Fernandes MCA, Santos A S, Ribeiro RLD (2001) Sensibilidade ao fungicida benomyl in vitro de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de pimentão, jiló e berinjela. Arquivos do Instituto Biológico. 68:89-95.
- Ferreira Df, (2011).SISVAR: A computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia. 35: 1039–1042.
- Figueiredo MB (1967). Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. Biológico . 33: 9–13.
- Gama A B, Baggio JS, Rebello CS, Lourenço SA, Gaspartoto MCG, Junior GJS, Peres NA, Amorim L (2020). Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* isolates from Citrus to Carbendazin, Difenconazole, Tebuconazole, and Trifloxystrobin. Plant Disease 104: 1621–1628.
- Hyde KD, Cai L. Mckenzie EHC, Yang YL, Zhang JZ, Prihastuti H (2009). *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. Fungal Diversity 39 : 1-17, 2009.
- Hyde KD, Norphanphoun C, Chen J, Dissanayake AJ, Doilom M, Hongsan S, Jayawardena R S, Jeewon R, Perera RH, Thongbai B, Wanasinghe DN, Wisitrassameewong K, Tibpromma S, Stadler M (2018) Thailand's amazing diversity: Up to 96% of fungi in northern Thailand may be novel. Fungal Diversity 93: 215–239.
- Katoh K, Standley DM (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. Molecular Biology and Evolution. 30: 772–780.
- Lima NB, Batista MVA, Morais Jr MA, Barbosa MAG, Michereff SJ, Hyde KD, Câmara MPS (2013). Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. Fungal Diversity.61:75-88.
- Liu F, Hyde KD, Cai L (2011) Neotypification of *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of potato black dot disease and tomato anthracnose. Mycology 2: 248–254.
- Liu F, Ma ZY, Hou LW, Diao YZ, Wu WP, Damm U, Song S, Cai L (2022) Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. Studies in Mycology 101: 1–56.

- Lopes LHR, Boiteux LS, Rossato M, Aguiar FM, Fonseca MEN, Oliveira VR, Reis A (2021) Diversity of *Colletotrichum* species causing onion anthracnose in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*. 159: 339–357.
- MADEIRA MCB **Caracterização de Germoplasma de Berinjela (*Solanum melongena* L.) e Avaliação da Resistência a *Colletotrichum gloeosporioides***. 1989, 267 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade de Brasília, Brasília, 1989.
- Magalhães IP, Gomes ME, Junior EJS, Fischer I H, Furtado E L, Moreira BRA, Prado EP, Firmino AC (2021). Pré-penetração e período de latência de *Colletotrichum tamarilloi* em clones de seringueira resistentes e suscetível sob diferentes condições ambientais. *Scientia Forestalis* 4(131).
- Manova V, Stoyanova Z, Rodeva R, Boycheva I, Korpelainen H, Vesterinen E, Wirta H, Bonchev G. (2022) Morphological, pathological and genetic diversity of the *Colletotrichum* species, pathogenic on Solanaceous vegetable crops in Bulgaria. *Journal of Fungi* 8: 1123.
- McKINNEY HH (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research*. 26:195–218.
- Oliveira BF, Reis A, Costa C A, Moita AW, Pilon A (2023) Avaliação da quitosana no controle in vitro de *Colletotrichum tamarilloi* e antracnose em frutos de jiló. *Horticultura Brasileira* 41:1–8.
- PEREIRA RMFV **Caracterização morfológica, fisiológica, serológica e eletroforética de *Colletotrichum gloeosporioides* “sensu” Arx, isolados de pimentão (*Capsicum annuum* L.) e jiló (*Solanum gilo* Raddi), e seu controle químico**. 1995. 151 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Piracicaba, 1995.
- Pérez-Mora JL, Cota-Rodríguez DA, Rodríguez-Palafox EE, GarcíaLeón E, Beltrán-Peña H, Lima NB, Tovar-Pedraza JM (2020) First confirmed report of *Colletotrichum coccodes* causing black dot on potato in Mexico. *Journal of Plant Disease and Protection* 127: 269–273.
- PRIHASTUTI, H; CAI, L; CHEN, H; MCKENZIE, E.H.C; HYDE, K.D. (2009). Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in northern Thailand. *Fungal Diversity*. 39: 89-109.
- Sato T, Moriwaki J, Kaneko S. (2015) Anthracnose fungi with curved conidia, *Colletotrichum* spp. belonging to Ribosomal Groups 9-13, and their host ranges in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly* 49: 351–362.
- Soares-Mota MR, Schwarz A, Bernardi MM, Maiorka PC, Spinosa HS (2010) Toxicological evaluation of 10% *Solanum lycocarpum* St. Hill fruit consumption in the diet of growing rats: Hematological, biochemical and histopathological effects. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 62:549–553.
- Sutton BC (1980). The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia acervuli and stromata. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- Sutton BC (1992). The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A; JEGER, M.J. *Colletotrichum – Biology, Pathology and Control*. Wallingford: CAB International,. 1-26.
- Shahriar SA, Husna A, Paul TT, Eaty MNK, Siddique AB, Rahim A MD, Noman A, Faruq A N, Uddain J, Siddiquee S (2023) *Colletotrichum truncatum* causing anthracnose of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in Malaysia. *Microorganisms* 11: 226.
- Pavan MA, Krause-Sakate R, Moura MF, Kurozawa C 2016. Doenças das solanáceas. In: Amorin L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (eds). Manual de fitopatologia, 5th ed. Editora Agronômica Ceres Ltda, Ouro fino, p.677-686.
- Pardo-De la Hoz CJ, Calderón C, Rincón AM, Cárdenas M, Danies G, López-Kleine L, Restrepo S, Jiménez P (2016) Species from the *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum boninense* and *Colletotrichum gloeosporioides* species complexes associated with tree tomato and mango crops in Colombia. *Plant Pathology* 65: 227–237.
- Prusky D, Alkan N, Mengiste T, Fluhr R (2013). Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during

- postharvest disease development. *Annual Review of Phytopathology*. 51:155-76.
- Reis A, Boiteux LS, Henz GP (2009) Antracnose em hortaliças da família Solanacea. Circular técnica. 79: 1-8.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-Delbarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Set. *Molecular Biology and Evolution*. 34: 3299–3302
- Staden R, Beal KF, Bonfiel JK (1998). The Staden package. In: MISENER S, KRAWETZ S.A. (eds). *Bioinformatics methods and protocols*. 1th ed. Editora Humana, New York. p. 115- 130.
- Talhinhas P, Baroncelli R (2021). *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. *Fungal Diversity*.
- Talhinhas P, Baroncelli R (2023). Hosts of *Colletotrichum*. *Mycosphere*. 14: 158-261.
- Templeton MD, Rikkerink EHA, Solon SL, Crowhurst RN (1992). 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.
- Tófoli JG, Domingues RJ, Ferrari JT (2015). Antracnose em solanáceas: Etiologia, características e controle. *Biológico* 77: 73–79.
- Tozze-Júnior HJ, Mello BA, Massola-Júnior NS (2006). Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. *Summa Phytopathologica* .32: 77-79.
- Trifinopoulos J, Lam-Tung N, Arndt Von H, Bui QM (2016) W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research*. 44: W232–W235.
- Vaidya G, Lohman DJ, Meier R. (2011) SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. *Cladistic* 27:171-180.
- Vieira WAS, Michereff SJ, Morais JR MA, Hyde KD, Câmara MPS, Doyle VP (2020/2014). Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. *Fungal Diversity*. 67: 181–202.
- Vieira WAS, Lima WG, Nascimento ES, Michereff SJ, Câmara MPS, Doyle VP (2017). The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with *Musa*. *Mycologia* 109:912-934.
- Vieira WAS, Bezerra PA, Silva AC, Veloso JS, Câmara MPS, Doyle VP (2020) Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 143:106694.
- Veloso JS, Lima WG, Reis A, Doyle VP, Michereff SJ, Câmara MPS (2021) Factors influencing biological traits and aggressiveness of *Colletotrichum* species associated with cashew anthracnose in Brazil. *Plant Pathology* 70: 167-180.
- Xu SJ, Aktaruzzaman M, Kim BS, Kim JY, Shin HD. (2018) First Report of Anthracnose Caused by *Colletotrichum fioriniae* on Eggplant Fruits in Korea. *Plant Disease* 102: 2642.
- Yarmeeva M, Kutuzova I, Kurchaev M, Chudinova E, Kokaeva L, Belosokhov A, Belov G, Elansky A, Pobedinskaya M, Tsindeliiani A, Tsvetkova Y, Elansky S (2023) *Colletotrichum* species on cultivated Solanaceae crops in Russia.
- Zamberlan, P. M. Estudos filogenéticos e filogeográficos nos gêneros *Athenaea* sendtn. e *Aureliana* sendtn. (Solanaceae). 2012, 118 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2012.

CAPÍTULO III

Diversidade genética intraespecífica de isolados de *Colletotrichum tamarilloi*

HORTICULTURA BRASILEIRA

Diversidade genética intraespecífica de isolados de *Colletotrichum tamarilloi*.

Athaise Ferreira de Lima¹, Leonardo Silva Boiteux^{1,2}, Maria Esther de Noronha
Fonseca¹, Josiene Silva Veloso¹, Ailton Reis^{1,2}

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em
Fitopatologia, 52171-000, Recife-PE;

²Embrapa Hortaliças, C. Posta 218, 70275-970, Brasília-DF

INTRODUÇÃO

A antracnose é a doença fúngica mais importante do jiloeiro (*Solanum aethiopicum* L. var. gilo) no Brasil, sendo causada por espécies de fungos do gênero *Colletotrichum*. A antracnose é uma doença de campo e de pós-colheita que apresenta um quadro sintomatológico que inclui lesões circulares, deprimidas de cor escura e com diâmetro variável. Posteriormente, sob condições de alta umidade, ocorre sobre a lesão uma produção de uma massa gelatinosa de coloração rósea-alaranjada formada, correspondendo aos conídios do fungo. A filogenia baseada em informações derivadas do sequenciamento de múltiplos genes (multilocus) se tornou a estratégia mais confiável para a identificação precisa das espécies associadas à antracnose em quaisquer hospedeiras devido à similaridade morfológica existente dentro dos membros desse gênero *Colletotrichum* (Damm et al., 2012; Marin-Felix et al., 2017). A antracnose do jiló no Brasil está associada maioritariamente à espécie *C. tamarilloi* (Alexandre et al., 2014; Oliveira et al., 2023). Porém, alguns autores, levando em consideração apenas caracteres morfológicos, relataram a associação das espécies *C. gloesporioides* e *C. acutatum* (Fernandes et al., 2002; Tozi Jr. et al., 2006; Tofoli et al., 2015).

Diferentes técnicas moleculares vêm sendo utilizadas para estudar a diversidade genética em microrganismos. O emprego de técnicas alternativas que permitem a rápida diferenciação de linhagens filogenéticas vem sendo cada vez mais comum. Dentre estas técnicas a análise de regiões repetitivas no genoma. A PCR baseada em sequências de elementos repetitivos (rep-PCR), permite a genotipagem e diferenciação de isolados. Amplicons de diferentes tamanhos são fracionados via eletroforese, formando padrões (= fingerprints) de DNA específicos para cada isolado e estes podem ser comparados. A aplicação de elementos palindrômicos extragênicos repetitivos (REP-PCR) ou de sequências de consenso intergênicos enterobacterianos repetitivos (ERIC-PCR) e os elementos (BOX) tem sido comum em diferentes grupos taxonômicos. No entanto, ERIC-PCR e BOX têm sido as ferramentas mais comumente utilizadas para a análise de diversidade genética de fungos (Bardas et al., 2009; Suzuki et al., 2010; Vila Nova et al., 2010). Segundo Mehta et al. (2002) a técnica de Rep-PCR representa uma alternativa para se ter acesso a diversidade genética dos fungos. Porém, diferentes estudos comprovam que a técnica de ERIC-PCR apresenta melhores resultados quando comparada ao uso combinado das outras duas técnicas que constituem a rep-PCR (REP-PCR e BOX) para diferentes microrganismos (Kim et al., 2003; Rasschaert et al., 2005).

Mesmo dentro de uma espécie em que os indivíduos se mostrem fenotipicamente muito semelhantes, diferenças devido a pequenas variações presentes entre no genoma podem ser identificadas para cada indivíduo. As diferenças combinadas no DNA de todos os indivíduos de uma espécie constituem a diversidade genética (Minter et al., 2021). Vale ressaltar que polimorfismos genéticos surgem dentro de espécies e entre as espécies e estas variações estão intimamente ligadas a evolução e conservação destas espécies (Ellegren & Galtier, 2016). Trabalhos anteriores confirmaram *Colletotrichum tamarilloi* como a espécie prevalente causando antracnose no jiló no Brasil (Oliveira et al., 2023; **Capítulo 1 desta tese**), sendo que esta espécie também ocorre em berinjela. Estudos tentando avaliar a variabilidade intraespecífica entre isolados de *C. tamarilloi* ainda não estão disponíveis. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo estimar (via emprego de marcadores ERIC-PCR) a variabilidade genética existente entre isolados de *C. tamarilloi* coletados de plantas de jiló e berinjela em diferentes regiões geográficas do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de isolados

Frutos sintomáticos de jiló foram coletados em campos de cultivos e/ou centro de abastecimentos (CEASA) nas regiões, nordeste, centro-oeste e sudeste do Brasil (Tab 1). A massa de conídios, que foi produzida nas lesões, foi transferida para placas de Petri, que continham meio de cultivo Batata Dextrose Ágar–BDA, acrescido de estreptomicina (na quantidade 50 µL/L) e diluídas sobre a superfície do meio (Costa *et al.*, 2022). Colônias isoladas (monospóricas), identificadas como pertencentes a espécie *C. tamarilloi*, foram transferidas para placas de Petri, contendo meio de cultivo BDA e então preservadas em tubos criogênicos mantidos em freezer na temperatura a -80°C (Figueiredo, 1967). Os isolados renomeados e depositados na Coleção de fungos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária–Embrapa Hortaliças. A identificação dos isolados, ao nível de espécie, foi feita por filogenia multilocus de regiões englobando os genes *Gapdh* e *Tub-2* (**Capítulo 2, desta tese**).

Extração de DNA e amplificação de segmentos genômicos de *C. tamarilloi* via ERIC-PCR

Os isolados de *C. tamarilloi* foram cultivados em BDA pelo período de sete dias, após este período extraiu-se o DNA do micélio produzido. O DNA genômico foi extraído de acordo com o protocolo CTAB (Doyle & Doile, 1990) com pequenas modificações. A concentração do DNA foi quantificada no espectrofotômetro Nano Drop One[®] (Thermo Scientific, Massachusetts, EUA) e diluído posteriormente para a concentração de 50 ng mL⁻¹. Nas reações de PCR, utilizou-se os primers (Versalovic et al., 1991) ERIC1R (5'–ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C–3') e ERIC2F (3'–AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G–5'). O volume final das reações de PCR foi de 40 µL, sendo 23,96 µL de água MiliQ, 4,0 µL de tampão 10X (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH 8.3), 4,0 µL de dNTP (2,5 M cada), 2,4 µL de MgCl₂ (MgCl₂ 50mM), 1,0 µL de cada primer, 0,64 µL de *Taq* DNA polimerase (5 u/l) e 3,0 µL de DNA genômico. Para a amplificação utilizou-se o seguinte programa: 95°C por dois minutos, seguido de 39 ciclos de 94 °C por um minuto, 48 °C por um minuto e 72°C por um minuto e 72° C por 10 minutos.

Análise de dados

Os produtos da PCR foram analisados em eletroforese em gel de agarose a 2,0% em tampão TBE tampão Tris/Borato/EDT A – TBE 0,5 X. A eletroforese foi conduzida a 50 V por aproximadamente quatro horas.

Em seguida foram digitalizados com o auxílio do transiluminador. Os padrões de banda observados foram utilizados para a construção das matrizes binárias, onde **0** = ausência de bandas e **1** = presença de bandas. Só foram consideradas as bandas bem definidas. Os dendrogramas foram construídos baseados nos dados do coeficiente de similaridade de Jaccard pelo método *Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages*–UPGMA pelo Software Multi Variate Statistical Package -MVSP 3.22 (Kovach, 1995).

RESULTADOS

Obtenção de isolados

Um total de 28 isolados foram obtidos de frutos de jiló e berinjela com sintomas de antracnose (Fig 1). Os isolados foram identificados no capítulo anterior, através de filogenia multilocus, como *Colletotrichum tamarilloi*. Estes foram obtidos em diferentes regiões produtoras das duas hortaliças no Brasil (Tab 1).



Fig 1 – Frutos de berinjela (A) e jiló (B) com sintomas de antracnose, causado por *Colletotrichum tamarilloi*.

Tabela 1 – Coleção de isolados de *Colletotrtichum tamarilloi*, obtidos de frutos de jiló e berinjela, em diferentes regiões produtoras do Brasil, e utilizados no presente trabalho.

Isolado	Hospedeira e órgão afetado	Local de coleta	Ano de coleta
C347	Jiló – fruto	Bom Jardim–RJ	2021
Coll 1661	Jiló – fruto	Ceilândia- DF	2022
Coll 168	Jiló – fruto	Ponte Alta-DF	2016
Coll 133	Jiló – fruto	Novo Gama- GO	2004
Coll 95	Berinjela– fruto	Brazlândia-DF	2021
Coll 96	Jiló – fruto	Brazlândia-DF	2020
Coll 682	Jiló – fruto	Brazlândia-DF	2020
Coll 136	Jiló – fruto	Raul Soares- MG	2021
Coll 419	Jiló – fruto	Lagoa Dourada- MG	2022
C991	Jiló – fruto	Samambaia–DF	2019
Coll 1611	Jiló – fruto	Novo Gama- GO	2019
Coll 109	Jiló – fruto	Novo Gama- GO	2017
Coll 1615	Jiló – fruto	Planaltina- DF	2018
Coll 112	Jiló – fruto	Formosa- GO	2021
Coll 1629	Jiló – fruto	Formosa- GO	2023
Coll 299	Jiló – fruto	São Joaquim de Bicas- MG	2023
Coll 635	Jiló – fruto	Chã Grande – PE	2021

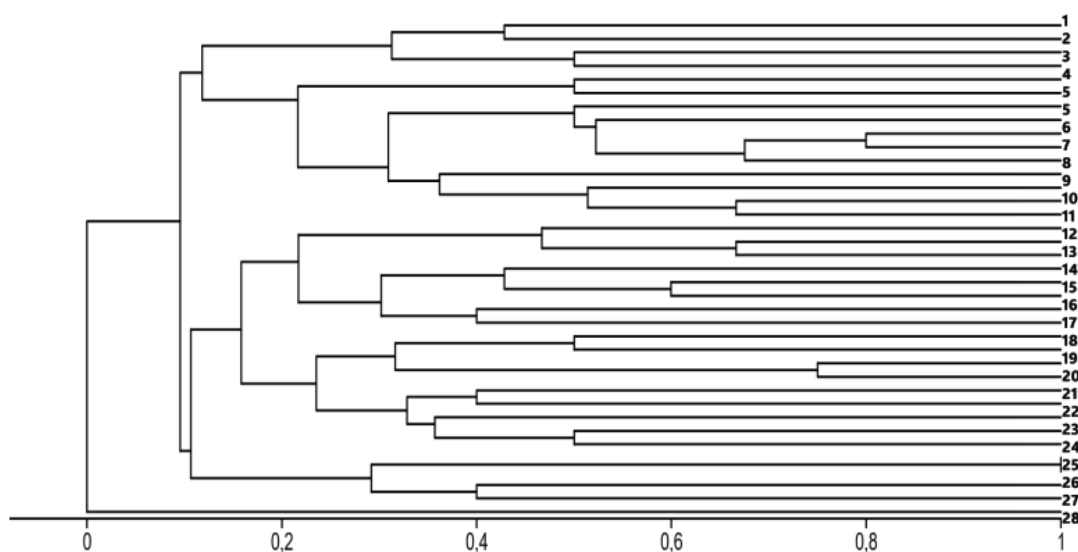
Coll 172	Jiló – fruto	Brazlândia- DF	2016
Coll 122	Jiló – fruto	Recife- PE	2021
Coll 94	Jiló – fruto	Bom Jardim- RJ	2022
Coll 159	Jiló – fruto	Raul Soares	2021
Coll 157	Jiló – fruto	São Gabriel-GO	2017
Coll 165	Jiló – fruto	Raul Soares	2020
Coll 167	Jiló – fruto	Raul Soares	2020
Coll 98	Jiló – fruto	Brazlândia- DF	2015
C30	Jiló- fruto	Inhapim	2018
Coll 1622	Jiló – fruto	Planaltina-DF	2019

Para a construção do dendrograma utilizou-se do transiluminador através da digitalização do gel de agarose (Fig 2).



M: Marcador DNA, 1- c347, 2- Coll 1661, 3- 168, 4-Coll 1622 e 5-133.
Figura 2- Fingerprints ERIC-PCR de isolados de *C. tamarilloi* em gel de agarose a 2%.

Após a construção do dendrograma, foram formadas 14 bandas que posteriormente, a partir dos padrões definidos foram utilizadas para gerar matrizes de distância dos isolados. Observou-se no dendrograma (Fig 3) a divisão dos isolados em dois grupos distintos, considerando o índice de similaridade de 80 %. Ambos os grupos são constituídos por isolados de diferentes estados.



Identificação isolados 1-96;2- c30;3-coll 1661;4-168;5-133;6-95;7-682;8-136;9-419;10-coll 1611;11-coll1615; 12-coll 1622;13-c347;14-4SJ; 15-109;16-112;17- c991;18-coll 1629; 19- 299;20-635; 21-172; 22-98;23-167;24-159;25-165;26-157; 27-122;28-94.

Figura 3– Dendrograma construído utilizando os padrões de bandas obtidos pela técnica ERIC-PCR mostrando o agrupamento de 36 isolados de *Colletotrichum tamarilloi* em dois grupos, com base no coeficiente de similaridade de Jaccard segundo método UPGMA.

DISCUSSÃO

A antracnose dos frutos é a principal doença em condições de campo e de pós-colheita do jiló no Brasil (Oliveira *et al.*, 2023). A doença também ocorre em berinjela, mas com menor frequência (Reis *et al.*, 2011). Estas duas hortaliças são consideradas as mais rústicas dentre as solanáceas, mas podem sofrer intensos ataques de espécies de *Colletotrichum*. A doença é caracterizada pela presença de lesões deprimidas de formato geralmente circular e se as condições epidemiológicas forem favoráveis nota-se a formação de massa gelatinosa rósea-alaranjada (Reis *et al.*, 2011).

Estudos de diversidade são essenciais para a compreensão da variabilidade genética existente nas espécies de patógenos, sendo as técnicas de análise moleculares essenciais, uma vez que, auxiliam nos estudos de genética de populações, podendo ser uma ferramenta auxiliar no manejo de doenças. Técnicas que mostram o polimorfismo dos indivíduos, quando se analisa os perfis de bandas, são bastante utilizadas para a diferenciação de isolados e espécies fúngicas. A técnica de ERIC-PCR foi inicialmente utilizada para avaliar a diversidade genética em procariotos. Quando utilizada para fungos mostrou-se útil no agrupamento e diferenciação de isolados baseado no perfil de bandas apresentado por cada indivíduo (Maharaj & Rampersad, 2012; Silva *et al.*, 2018).

A técnica ERIC-PCR foi aplicada nos isolados de *C. tamarilloi*, obtidos neste

trabalho, foi gerado um dendrograma, que demonstra uma alta diversidade intraespecífica entre os isolados. O grupo 1 é constituído pelos isolados (96, c30, coll 1661, 168, 133 e 682), oriundos dos estados de Minas Gerais, Goiás e do Distrito Federal, os demais isolados formaram um grande grupo, onde estão contidos todos os isolados oriundos de Pernambuco, Rio de Janeiro, porém há o predomínio de isolados de Goiás e Distrito Federal. Vale ressaltar que a estrutura genética de uma população é resultado das ações e interações das várias forças evolutivas, ou seja, a partição da variabilidade genética intra e inter populações de uma espécie, é resultante da interação entre as forças evolutivas como a mutação, seleção, deriva e migração, sendo influenciadas pelas taxas de recombinação nos loci durante a meiose. Em suma, os níveis de diversidade dentro e entre as populações dependem de qual das forças evolutivas que predominam no ambiente agrícola (Burdon & Silk, 1997).

A espécie *Colletotrichum tamarilloi* é capaz de infectar outras espécies botânicas como o morango, a seringueira, cebola e o tamarillo (Damm et al. 2012; Oliveira et al., 2023; Lopes et al., 2021; Magalhães et al., 2021). Porém é a espécie majoritariamente encontrada em campos de cultivo de jiloeiros no Brasil, afetando diferentes órgãos desta planta e frutos em todos os estágios de maturação. A capacidade de uma espécie fúngica afetar suas hospedeiras se deve a evolução, uma vez que algumas espécies fitopatogênicas possuem uma gama de hospedeiros limitada, indicando que o processo de infecção não é específico para todas as plantas que uma determinada espécie causa doença (Van Der Does & Rep, 2007).

A utilização de *fingerprints* é uma estratégia que pode ser utilizada na diferenciação de microrganismos, apresentando como vantagem principal a oportunidade de identificar microrganismos que possuem a identificação morfológica e cultural confusa, além de reduzir o tempo e o custo para a realização destas análises (Abdollahzadeh & Zolfaghari, 2014; Behnia et al., 2016). Esta técnica também pode ser utilizada para estabelecer e entender as relações geográficas entre os isolados, tal como para as relações de virulência (Bardas et al., 2009). Neste estudo, esta técnica foi utilizada para medir a diversidade genética entre isolados de *C. tamarilloi*, demonstrando que os isolados brasileiros deste fungo são bastante diversos.

O jiló é propagado por sementes ou mudas e não há nenhuma cultivar resistente a espécies de *Colletotrichum*. A semente infectada pode disseminar o patógeno de uma área para outra, podendo transmitir a doença para as plântulas. As plantas estarão suscetíveis a este patógeno em todas as fases de desenvolvimento. Vale ressaltar que o patógeno se dispersa pelo vento, chuva, água da irrigação, além de poder sobreviver em hospedeiras

ocasionais e restos de cultivo (Fu *et al.*, 2022). A identificação de isolados do fungo, semelhantes geneticamente mas coletados em regiões distintas, pode ser consequência da sua dispersão via semente. Outro fato importante é a comercialização dos mesmos, uma vez que os frutos podem ser colhidos em um local e comercializado em outros. O que aponta uma possível variação nas relações geográficas dos grupos aqui formados.

Em alguns casos, apenas uma região repetitiva contém informações discriminatórias, possibilitando a diferenciação eficiente entre espécies. Estudos comparativos indicaram que a técnica de ERIC-PCR apresenta resultados superiores em relação à REP-PCR (Rasschaert *et al.*, 2005). As sequências ERIC têm cerca de 126 pb e possuem uma repetição invertida central altamente conservada, localizando-se em regiões transcritas não codificantes (Waturangi *et al.*, 2012). A técnica de ERIC-PCR aplicada a *Colletotrichum* proporcionou uma separação eficaz dos isolados com base nos perfis de bandas gerados, sendo especialmente útil quando se lida com um grande número de isolados, facilitando a seleção e triagem conforme os perfis de bandas apresentados (Silva *et al.*, 2019). Estudos adicionais são necessários para verificar se existe correlação entre os grupos formados com características de adaptabilidade como agressividade e resistência a fungicidas, entre outras.

CONCLUSÕES

A aplicação da técnica de ERIC-PCR em isolados de *Colletotrichum tamarilloi* revelou a presença de polimorfismo intraespecífico, permitindo a discriminação da espécie em dois grupos distintos, com base no índice de similaridade de Jaccard de 80%. Esses resultados demonstram a eficiência da ERIC-PCR como uma ferramenta molecular para estudos de variabilidade genética dentro dessa espécie, contribuindo para um melhor entendimento de sua diversidade e possível adaptação.

REFERÊNCIAS

- Abdollahzadeh J, Zolfaghari S (2014) Efficiency of rep-PCR fingerprinting as a useful technique for molecular typing of plant pathogenic fungal species: Botryosphaeriaceae species as a case study. FEMS Microbiology Letters 361: 144–157.
- Alexandre ER, Herculano LM, Silva JM, Oliveira SMA (2014) Fosfitos no manejo da antracnose do jiló. Pesquisa Agropecuária Brasileira 49: 930–938.

- Bardas GA, Koutita O, Tzavella-Klonari K. (2009). Molecular diversity and assessment of biological characteristics of Greek *Colletotrichum lindemuthianum* populations. *Journal of Phytopathology*, 157: 311–318.
- Behnia M, Javan-Nikkhah M, Aminian H, Razavi M, Alizadeh A. (2016). Population structure and sexual fertility of *Colletotrichum gloeosporioides* sensu lato from citrus in Northern Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 18: 561–573.
- Burdon JJ, Silk J (1997) Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. *Phytopathology* 87: 664—669.
- Costa C A, Jr VL, Santiago MF, Veloso JS, Reis A (2022) Molecular phylogenetic, morphological, and pathogenic analyses reveal a single clonal population of *Septoria lycopersici* with a narrower host range in Brazil. *Plant Pathology*.
- DOYLE, J.J; DOYLE, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- Damm U, Cannon F, Woudenberg JHC, Crous PW (2012). The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*.73: 37–113.
- Ellegren H, Galtier N (2016) Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*. 7: 422–433.
- Fernandes MCA, Santos AS, Ribeiro RLD (2002). Adaptação patogênica de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de frutos de jiloeiro, pimentão e berinjela. *Summa Phytopathologica* 28: 325–330.
- Figueiredo MB. (1967) Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. *O Biológico* 33: 9–13.
- Fu T, Hyun-Hoo P, Kyoung SK (2022). Role of the cAMP signaling pathway in the dissemination and development on pepper fruit anthracnose disease caused by *Colletotrichum scovillei*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 12.
- Kim W, Song MO, Song W, Kim KJ, Chung SI, Choi SC, Park YH (2003). Comparison

of 16S rDNA analysis and rep-PCR genomic fingerprinting for molecular identification of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 83: 125–133. [https:// doi: 10.1023/a:1023301924932](https://doi.org/10.1023/a:1023301924932).

Kovach WL. (1995). Multivariate data analysis. In: Maddy, D. and Brew, J. (eds.), *Statistical modelling of Quaternary science data*. Quaternary Research Association, Cambridge.

Lopes LHR, Boiteux LS, Rossato M, Aguiar FM, Fonseca MEN, Oliveira VR, Reis A (2021) Diversity of *Colletotrichum* species causing onion anthracnose in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 159: 339– 357.

Magalhães I P, Gomes ME, Junior EJS, Fischer I H, Furtado E L, Moreira B R A, Prado E P, Firmino A C. (2021). Pré-penetração e período de latência de *Colletotrichum tamarilloi* em clones de seringueira resistentes e suscetível sob diferentes condições ambientais. *Scientia Forestalis* 4(131).

Maharaj A, Rampersad SN (2012). Genetic differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. truncatum* associated with anthracnose disease of papaya (*Carica papaya* L.) and bell pepper (*Capsium annuum* L.) based on ITS PCR–RFLP Fingerprinting. *Molecular Biotechnology*.v 50: 237–249.

Marin-Felix Y, Groenewald J Z, Cai L, Chen Q , Marincowitz S, Barnes I, Bensch K, Braun U, Camporesi E, Damm U, de Beer ZW, Dissanayake A, Edwards J, Giraldo A, Hernández-Restrepo M, Hyde KD, Jayawardena RS, Lombard L, Luangsa-Ard J, McTaggart AR, Rossman AY, Sandoval-Denis M, Shen M, Shivas, RG, Tan YP, van der Linde E J, Wingfield M J, Wood AR, Zhang JQ, Zhang Y, Crous PW (2017). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. *Studies in Mycology* 86: 99–216. [https:// doi: 10.1016/j.simyco.2017.04.002](https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.04.002).

Mehta A, Mehta YR, Rosato YB. (2002). ERIC- and REP_PCR amplify non-repetitive fragments from the genome of *Drechslera avenae* and *Stemphylium solani*. *FEMS Microbiology Letters*. 211: 51-55

Minter M, Nielsen ES, Blyth C, Bertola LD, Kantar MB, Morales HE, Orland C,

Segelbacher G, Leigh DM.(2021). What Is genetic diversity and why does it Matter?
Frontier Young Minds 9: 656168.

Oliveira BF, Reis A, Costa CA, Moita AW, Pilon L. (2023). Evaluation of chitosan for
in vitro control of *Colletotrichum tamarilloi* and anthracnose on scarlet eggplant fruit.
Horticultura Brasileira. 41:01–08.

Pinheiro JB, Pereira RB, Freitas RA, Melo RAC (2015). A cultura do jiló. Coleção plantar
75. 1ª ed. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília-DF.

Reis A, Boiteux LS, Henz GP (2009). Antracnose em hortaliças da família Solanacea.
Circular técnica 79. 1ª ed. Embrapa Hortaliças. Brasília-DF.

Reis A, Boiteux LS, Lopes CA. (2011). Doenças da berinjela no Brasil. Circular Técnica,
97. 1ª ed. Embrapa Hortaliças. Brasília.

Rasschaert G, Houf K, Imberechts H, Grijspeerdt K, Zutter L, Heyndrickx M. (2005).
Comparison of five repetitive-sequence based PCR typing methods for molecular
discrimination of *Salmonella enterica* isolates. Journal of Clinical Microbiology. 43:
3615–3623.

Silva DDCSD, Martins MLL, Santos AS, Santos VDS, Alves AAC, Ledo CADS (2019).
Obtaining hybrids of cultivars and wild subspecies of cassava. Pesquisa Agropecuária
Brasileira. v.53 (2):182-188.

Suzuki T, Tanaka-Miwa C, Ebihara Y, Ito Y, Uematsu S. (2010). Genetic polymorphism
and virulence of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from strawberry (*Fragaria x*
ananassa Duchesne). Journal of General Plant Pathology. 76:247–253.

Töfoli JG, Domingues RJ, Ferrari JT (2015) Antracnose em solanáceas: Etiologia,
características e controle. Biológico 77 (1): 73–79.

Tozze Jr., HJ, Mello MBA, Massola Jr. NS. (2006) Morphological and physiological
characterization of *Colletotrichum* sp. isolates from solanaceous crops. Summa
Phytopathologica. 32:71–79, 2006.

Van Der Does HC, Rep M. (2007) Virulence genes and the evolution of host specificity in plant pathogenic fungi. *Molecular Plant–Microbe Interactions* 20: 1175–1182.

Versalovic J, Koeuth T, Lupski R J. (1991). Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research* 19: 6823–6831.

Vila Nova MX, Borges LR, Sousa ACB, Brasileiro BTRV, Lima EALA, Costa AF, Oliveira NT (2011). Pathogenicity for onion and genetic diversity of isolates of the pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* (Phyllachoraceae) from the State of Pernambuco, Brazil. *Genetics and Molecular Research*. 10: 311–320.

Waturangi DE, Joanito I, Yogi Y, Thomas S (2012) Use of REP-and ERIC-PCR to reveal genetic heterogeneity of *Vibrio cholerae* from edible ice in Jakarta, Indonesia. *Gut Pathogens*, v. 4, p. 2.

CAPÍTULO IV

Conclusões gerais

Nosso estudo contribui para o entendimento da diversidade de espécies de *Colletotrichum* associadas a culturas de batata, tomate, jiló e berinjela em diferentes estados brasileiros, utilizando análises filogenéticas baseadas nos marcadores GAPDH e Bet2. Foram identificadas espécies pertencentes a diferentes complexos (*Acutatum*, *Truncatum*, *Gloeosporioides* e *Coccodes*), com destaque para *Colletotrichum tamarilloi*, que apresentou a maior prevalência, especialmente em frutos de jiló, devido à predominância de isolados dessa espécie. *Colletotrichum truncatum* foi a segunda espécie mais prevalente, com uma distribuição uniforme entre tomate, jiló e berinjela. Em termos de agressividade, *C. truncatum* (isolado 1785) destacou-se em frutos de tomate, enquanto *C. coccodes* (isolado Coll 992) foi mais agressivo em jiló. Já em plântulas de berinjela, o isolado 1787 de *C. truncatum* apresentou maior severidade na cultivar Ciça F2. Esses resultados reforçam a importância do monitoramento e identificação de espécies de *Colletotrichum* para o manejo eficiente dessas culturas.

A aplicação da técnica de ERIC-PCR em isolados de *Colletotrichum tamarilloi* revelou a presença de polimorfismo intraespecífico, permitindo a discriminação da espécie em dois grupos distintos, com base no índice de similaridade de Jaccard de 80%. Esses resultados demonstram a eficiência da ERIC-PCR como uma ferramenta molecular para estudos de variabilidade genética dentro dessa espécie, contribuindo para um melhor entendimento de sua diversidade e possível adaptação.