



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE
PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Tese de Doutorado

Taxonomia e epidemiologia comparativa de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do mamão no Brasil

Angélica dos Santos Nunes

**Recife – PE
2019**

ANGÉLICA DOS SANTOS NUNES

**TAXONOMIA E EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA DE
ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE
DO MAMÃO 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: Prof. Marcos Paz Saraiva Câmara Ph.D.

Coorientadores: Dr. Alexandre Reis

Dr. Delson Laranjeira

**RECIFE-PE
SETEMBRO – 2019**

**Taxonomia e epidemiologia comparativa de espécies de
Colletotrichum associadas à antracnose do mamão no Brasil**

Angélica dos Santos Nunes

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora 18/09/2019

ORIENTADOR:

Prof. Marcos Paz Saraiva Câmara Phd

EXAMINADORES:

Prof^a. Dr^a. Elineide Barbosa de Souza

Prof^a. Dr^a. Rosana Lawid

Dr. Wilson José da Silva Júnior

Prof. Dr. Marco Jacinto Katzenberger Baptista Novo

**RECIFE-PE
SETEMBRO-2019**

A Deus

Ofereço

A minha mãe, Tânia Rodrigues dos Santos e
minhas irmãs Larissa dos Santos Nunes e
Amábelli dos Santos Nunes. **Dedico.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado por toda a minha vida e colocado pessoas tão especiais em meu caminho.

A minha mãe Tânia e as minhas irmãs Amábelli e Larissa, por todo amor e apoio incondicionais a mim dispensados.

Ao meu namorado Bruno Ferreira, por toda dedicação, carinho, apoio e paciência quando eu mais precisei.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade a mim dada de fazer Pós-graduação em Fitopatologia.

Ao progoma de Pós-graduação em Fitopatologia e a todos os funcionários e professores, por toda ajuda, trabalho, formação científica e profissional.

Ao Conselho Nacional de desenvolvimento científico e tecnológico (CNPQ) e a Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (Capes) pela concessão de bolsas.

A todos os produtores que me receberam em suas propriedades com muito carinho e zelo.

Ao professor Marcos Paz Saraiva Camâra, por ter me recebido no laboratório e pela orientação.

Aos Doutores Willie Anderson e Josiene Veloso por toda ajuda, apoio e pelos conselhos dispensados a mim.

Ao meu amigo e colega de laboratório Anthony por toda ajuda não só na realização dos meus experimentos, mas também pelo apoio e amizade.

A todos os colegas do laboratório de micologia, pelos ótimos momentos compartilhados.

Aos colegas da Pós-Graduação, pela amizade, pelas dificuldades e alegrias que compartilhamos.

Aos meus amigos, pelos conselhos, ideias, cumplicidade, risos e amizade tornando minha caminhada mais prazerosa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação, o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – Introdução geral.....	8
1. A cultura do mamão	9
1.1 Antracnose do mamão	13
1.2 O gênero <i>Colletotrichum</i>	15
1.3 Epidemiologia comparativa da antracnose no mamão	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO II – Who causes papaya anthracnose in Brazil?	30
RESUMO	31
ABSTRACT	32
Introduction	33
Materials and Methods	34
Results	36
Discussion	38
Literature Cited.....	41
CAPÍTULO III – Adaptabilidade comparativa de espécies de <i>Colletotrichum</i> spp. associadas a antracnose do mamão no Brasil	57
Resumo	58
Abstract	59
Introdução.....	60
Material e Métodos	61
Resultados	65
Discussão.....	66
Referências	70
CAPÍTULO IV – Conclusões gerais.....	78

RESUMO GERAL

O mamão (*Carica papaya* L.) é uma das frutas tropicais de maior destaque no Brasil, sendo cultivado em quase todo território brasileiro com uma produção de 1,5 milhões de toneladas anualmente. O estado da Bahia é o maior produtor da fruta com 36% da produção no País, seguido pelo estado do Espírito Santo com 29%. No segundo semestre de 2018, além dos estados do já citados, Ceará (11%), Rio Grande do Norte (8%) e Minas Gerais (4%) apresentaram aumento significativo na sua produção. Entretanto, este aumento está ameaçado por diversas doenças que acometem a cultura, sendo a antracnose responsável por enormes perdas principalmente no período da pós-colheita. O agente etiológico associado aos sintomas encontrados nos frutos são espécies do gênero *Colletotrichum*. Estudos recentes relatam *C. queenslandicum*, *C. karstii*, *C. gloeosporioides*, *C. brevisporum*, *C. siamense* como as espécies associadas a antracnose. No Brasil, foram identificadas *C. magna* e *C. gloeosporioides* como agente etiológico da doença. *Colletotrichum magna* não é uma espécie válida e os marcadores utilizados não são suficientemente informativos para o reconhecimento de espécies de *Colletotrichum*. O que se sugere é que uma abordagem polifásica deve ser adotada antes de novas espécies de *Colletotrichum* serem introduzidas ou espécies tipo serem designados. Além disso, é importante conhecer aspectos epidemiológicos como efeito de temperatura, gama de hospedeiros, virulência e patogenicidade das diferentes espécies do gênero. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi identificar espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do mamão e seus aspectos epidemiológicos na cultura do mamoeiro no Brasil. No primeiro estudo foram feitas análises moleculares utilizando uma abordagem polifásica com nove genes. Além disso, determinou-se a patogenicidade e prevalência das espécies. Foram obtidos 142 isolados, 10 espécies novas, destas, 6 espécies, nunca relatadas no Brasil causando antracnose em frutos de mamão. No segundo artigo, avaliou a virulência de 10 espécies de *Colletotrichum* previamente identificadas no trabalho anterior. Avaliou-se a influência da temperatura, gama de hospedeiros e o efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial das espécies nos frutos. Como resultado foram obtidos diferentes níveis de virulência em gama de hospedeiros. Não houve sintomas da antracnose nos frutos de maracujá. A temperatura ótima tanto para o crescimento micelial quanto para a produção de conídios variou entre 26,04 e 30,05 °C. A dose aplicada de tiofanato-metilico foi eficaz para controlar as espécies encontradas no campo.

Palavras-chave: *Carica papaya*, filogenia, etiologia

GENERAL ABSTRACT

Papaya (*Carica papaya* L.) is one of the most prominent tropical fruits in Brazil, being grown almost all over the Brazilian territory with a production of 1.5 million historical tons. The state of Bahia is the largest fruit producer with 36% of production in the country, followed by the state of Espírito Santo with 29%. In the second half of 2018, besides the states mentioned, Ceará (11%), Rio Grande do Norte (8%) and Minas Gerais (4%) showed a significant increase in their production. However, this increase is being threatened by several diseases that affect a crop, being responsible for huge variations especially in the postharvest period. The etiological agent associated with the symptoms found in the fruits are species of the genus *Colletotrichum*. Recent studies report *C. queenslandicum*, *C. karstii*, *C. gloeosporioides*, *C. brevisporum*, *C. siamense* as anthracnose-associated species. In Brazil, *C. magna* and *C. gloeosporioides* were identified as etiological agents of the disease. *Colletotrichum magna* is not a valid species and the markers used are not useful for recognizing *Colletotrichum* species. This suggests that a policy approach should be taken before new *Colletotrichum* species are introduced or designated species. Moreover, it is important to know epidemiological aspects such as effect of temperature, host range, virulence and pathogenicity of different species of genus. Thus, the aim of the present study was to identify *Colletotrichum* species associated with papaya anthracnose and its epidemiological aspects in papaya culture in Brazil. In the first study, molecular analyzes were performed using a polyphase approach with nine genes. It also determines the pathogenicity and prevalence of the species. We selected 142, 10 new species, of these 6 species, never related to Brazil that cause anthracnose in papaya fruits. In the second article, it evaluated the virulence of 10 species of *Colletotrichum* identified in the previous work. The influence of temperature, host range and fungicide effect on the mycelial growth of fruit species is reduced. As a result, different levels of virulence in host range were selected. There were no symptoms of anthracnose in passion fruit. The optimum temperature for both mycelial growth and conidia production varied between 26.04 and 30.05 °C. An applied dose of thiophanate methyl was effective to control as species found in the field.

Keyword: *Carica papaya*, phylogeny, etiology

CAPÍTULO I

Introdução geral

Txonomia e epidemiologia comparativa de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do mamão no Brasil

INTRODUÇÃO GERAL

1. A cultura do mamão

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) pertence à família Caricaceae, que está dividida em seis gêneros, com 35 espécies (CHEN *et. al.*, 1991). Segundo Costa (2013), o centro de origem e dispersão do mamão é o Caribe, posteriormente espalhou -se para a Índia, Pacífico e África. Atualmente, o mamoeiro é cultivado em todos os países tropicais e muitas regiões subtropicais do mundo (TRINDADE, 2010). Também é amplamente popular no Oriente, sendo largamente cultivado na Índia, Sri Lanka, Arquipélago Malaio, e em países da América do Sul, América Central e Antilhas, bem como na África tropical, Havaí e Austrália (TRINDADE, 2010). Nesses países a cultura é utilizada para abastecer os mercados locais e de exportação de fruta fresca, além de ser muito usada como fonte importante de papaína, enzima proteolítica de ação semelhante à da pepsina e tripsina, que pode ser empregada para os mais variados usos na indústria farmacêutica, têxteis, cosméticos e de alimentos (RUGGIERO *et al.*, 2011).

No Brasil, frutos de mamão são cultivados praticamente em todos os estados brasileiros, sendo o segundo maior produtor e exportador no cenário internacional, ficando atrás, apenas da Índia que tem uma produção de 5 milhões de toneladas (Figura 1). De acordo com os dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2019), o Brasil produz 1,5 milhão de toneladas anualmente, possui uma área plantada de 32 mil hectares e exporta a fruta para países da Europa e principalmente, para os Estados Unidos. Só em janeiro de 2019, 3,5 mil toneladas foram exportadas para outros países, o que representa um volume de 30% maior em relação ao mesmo período do ano anterior (FAOSTAT, 2019). Os estados da Bahia e Espírito Santo, são os maiores produtores da fruta no Brasil e juntos, retém 65% da produção (EMBRAPA, 2019). O estado da Bahia é o maior produtor da fruta com 36% da produção no País. Mais recentemente os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Minas Gerais e Paraíba vêm apresentando dados de produção animadores para este mercado (GALEANO; MARTINS, 2015). Entre as frutas da pauta de exportação brasileira de 2018, o mamão esteve entre as oito primeiras, com uma participação de 6,4% entre as mais exportadas (FAOSTAT, 2019).

















Rank	Country/Region	2017	2016
1	 India	5,940,000	5,667,000
2	 Brazil	1,057,101	1,424,677
3	 Mexico	961,768	951,922
4	 Indonesia	875,112	904,284
5	 Dominican Republic	869,306	863,201
6	 Nigeria	837,738	833,362
7	 Democratic Republic of the Congo	214,836	215,585
8	 Cuba	189,086	212,579
9	 Colombia	179,979	177,458
10	 Venezuela	178,740	175,677
11	 Peru	177,995	169,437
12	 Thailand	175,782	173,829
13	 Philippines	167,043	162,481
14	 Bangladesh	134,647	130,371
15	 Kenya	129,361	127,527
16	 Taiwan	114,169	105,921

Figura 1 - Lista de países por produção de mamão em 2016 e 2017, com base em dados do Banco de Dados Estatísticos Corporativos da Organização para a Alimentação e Agricultura – FAO.

A cultura do mamoeiro no País, obteve muitas mudanças significativas na melhoria da qualidade dos frutos produzidos. O alto investimento em pesquisas para melhorar o desempenho da cultura levaram ao aumento na produção dos frutos (TEIXEIRA JÚNIOR *et al.* 2019). Além disso, existe uma tendência de crescimento das exportações brasileiras de mamão, que assegurara à estabilidade e rentabilidade da cultura ao mercado internacional (RUGGIERO *et al.*, 2011). É importante ressaltar que essas melhorias ocorreram a partir de 1973, com a introdução do mamão variedade havaí, também conhecida como mamão papaya ou mamão amazônia (SERRANO; CATTANEO, 2010). Essa variedade do grupo Solo teve rápida aceitação pelos consumidores, por apresentar características que se adaptam melhor às exigências do mercado internacional, sendo exploradas em várias regiões do mundo por produzirem frutos preferidos no processo de exportação (TRINDADE, 2010).

O mamoeiro é uma planta de crescimento regular, que produz frutos de boa qualidade em regiões de grande insolação, com temperaturas variando de 22°C a 26°C, pluviosidade de 1.800 mm a 2.000 mm anuais (MARTINS, 2003). Também é boa fonte de cálcio e excelente fonte de provitamina A e C, o que aumenta com a maturação do fruto, além disso, tudo pode ser utilizado e extraído da planta como: folhas, frutos e sementes (MEDINA, 1995). É uma planta tipicamente tropical com uma temperatura média ótima para o cultivo está em torno de 25°C, com boa distribuição e quantidade de chuva, ou com irrigação. A umidade relativa do ar entre 60% e 85% é a mais favorável ao desenvolvimento da cultura (RESENDE *et al.*, 2010). A altitude mais indicada é de até 200m acima do nível do mar, embora a planta produza bem em áreas mais altas (EMBRAPA, 2017). Os frutos de mamoeiro podem adaptar-se também ao clima subtropical, em climas temperados e nos microclimas livres de geadas. Nestas condições, os frutos geralmente são de má qualidade e, normalmente, a planta não completa o seu ciclo, sendo difícil realizar a colheita de frutos completamente maduros, possibilitando apenas a utilização de frutos verdes na elaboração de doces. Em geral, temperaturas excessivamente baixas causam danos nos frutos e morte das plantas (TEIXEIRA JÚNIOR *et al.* 2019). O mamoeiro também é sensível a ventos mais fortes que podem provocar o fendilhamento e a queda das folhas, reduzindo a área foliar da planta e, conseqüentemente, a capacidade fotossintética, expondo os frutos aos raios solares, sujeitando-os às queimaduras. Podem também provocar a queda de flores, frutos e, principalmente, das plantas em fase de produção, pois estas apresentam consistência herbácea e sistema radicular relativamente fracos. Dessa forma, para minimizar o problema nas regiões com alta incidência de ventos, torna-se necessária a construção de quebra-ventos (TEIXEIRA JÚNIOR *et al.* 2019). A constituição da planta e do fruto é de aproximadamente 85% de água, exigindo, tanto no período de crescimento ativo quanto no período de produção, amplo suprimento de água que poderá ocorrer por meio da chuva, da irrigação, ou de ambas (EMBRAPA, 2017). Embora o mamoeiro cresça em solos dos mais diversos tipos, estes devem apresentar como principal característica uma boa permeabilidade. Dessa maneira, o solo mais adequado para o desenvolvimento do mamoeiro é o de textura areno-argilosa, com pH variando de 5,5 a 6,7 (EMBRAPA, 2017). Solos muito argilosos, pouco profundos, ou localizados em baixadas que se encharcam com facilidade, dificultam a produção do fruto e podem apresentar altos índices de doenças não sendo recomendados plantações nesses locais (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Assim como outras culturas, o mamoeiro é hospedeiro de vários agentes etiológicos que

afetam diretamente a produção e exportação por causarem grandes danos à cultura, tanto no campo e principalmente na pós-colheita (BASULLTO *et al.*, 2011).

As doenças de origem virótica e fúngica são os que causam maiores prejuízos na cultura. Quando os agentes são os vírus, as principais doenças relatadas são: o amarelo-letal, uma doença causada pelo vírus *Papaya lethal yellowing virus* (MARIN *et al.*, 2004) e o mosaico ou mancha-anelar do mamoeiro, causada pelo vírus *Papaya ringspot virus* biótipo mamão (PRSV-p) (OLIVEIRA *et al.*, 1994). Este último é o percurso de grandes perdas na cultura. Pertencente da família Potyviridae, gênero Potyvirus, esse vírus tem sido denominado de diversas formas, estando o mesmo classificado em dois biótipos distinguíveis por suas características biológicas (VENTURA *et al.*, 2015) (Figura 2a). O biótipo W (“Watermelon”, PRSV-W), antigamente denominado de vírus-1 do mosaico da melancia (“Watermelon mosaic virus –1”, WMV-1) e o biótipo P (“Papaya”, PRSV-P), que é capaz de causar doença em diversas espécies da família Caricaceae. O PRSV-P causa grande impacto na produção de mamão em vários países, principalmente no sudeste da Ásia e no Brasil. Não existem evidências de transmissão do PRSV-P por semente de mamoeiro, no entanto, o vírus é transmitido por mais de 20 espécies de afídeos de forma não persistente (GONSALVES *et al.*, 2010). Embora não haja colonização das plantas de mamoeiro, os processos de aquisição e de inoculação do vírus ocorrem por ocasião das picadas de provas para reconhecimento de seus hospedeiros, durante suas visitas às plantas infectadas e posteriormente a plantas saudáveis. Por tal razão, a transmissão se dá com mais eficiência, devido às constantes movimentações dos vetores dentro do pomar (GONSALVES *et al.*, 2010). Quando os prejuízos são causados por fungos as principais doenças relatadas são a varíola ou pinta-preta causada por *Asperisporium carica* (SANTOS FILHO *et al.*, 2007) e a antracnose causada por espécies do gênero *Colletotrichum* spp. (TRINDADE, 2010). A varíola do mamoeiro é uma das doenças mais comum e mais danosas, incide diretamente nos frutos, depreciando-os comercialmente (Figura 2b). O desenvolvimento da planta, principalmente as mais novas, pode ser afetado quando a incidência da doença for muito elevada. Nos frutos, inicialmente, aparecem áreas circulares encharcadas, que evoluem para pústulas marrons e salientes, podendo atingir 5 mm de diâmetro. Estas lesões não atingem a polpa do fruto, causando apenas um endurecimento da casca na parte afetada. A frutificação do fungo e pulverulenta e escura, ocorre na parte inferior da folha, dando à mancha um aspecto cinzento a preto. O sintoma típico da doença são pústulas marrons e salientes na casca dos frutos (SOUZA *et al.*, 2014). A

antracnose causa enormes perdas na pós-colheita do cultivo de mamão e prejudica a qualidade do fruto, afetando os países líderes de exportação, atingindo perdas econômicas de aproximadamente US\$ 28 milhões anuais (BRASULTO *et al.*, 2011).

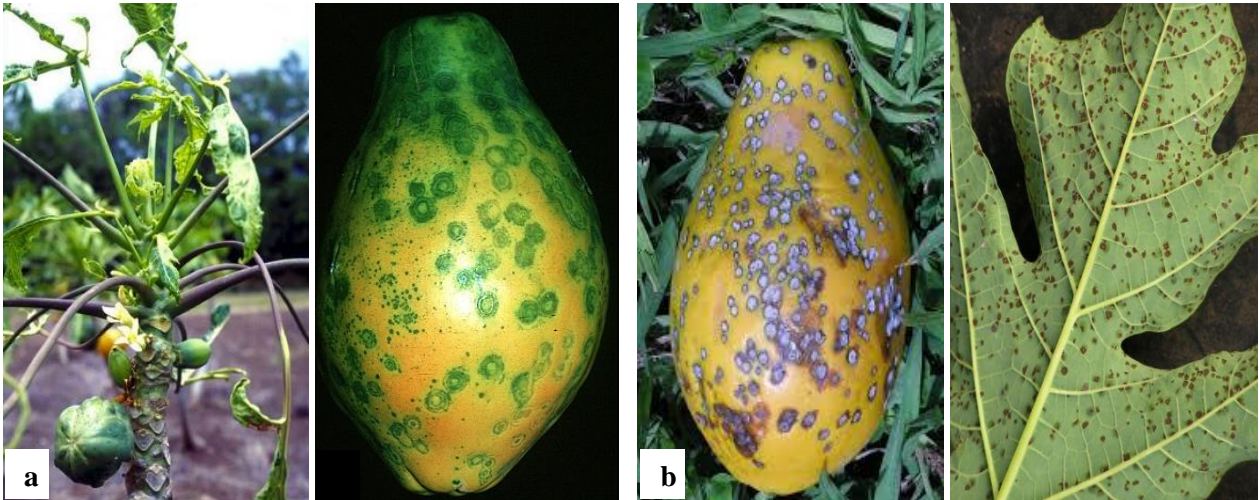


Figura 2ab – A- Sintomas de *Papaya ringpost* vírus causando em mamão. B- Sintomas de *Asperisporium carica* causando endurecimento da casca de frutos do mamoeiro. Fonte: Revista The Plant Health Instructor.

1.1 Antracnose do mamão

A antracnose em mamoeiro é causada por *Colletotrichum* spp. e ocorre praticamente em todas as regiões produtoras de mamão no mundo, sendo fator limitante da produção na maioria dos países que cultivam o fruto (ZAMBOLIM, 2002; BRASULTO *et al.*, 2011). A fonte de inóculo do fungo pode encontrar-se em partes da planta como folhas cloróticas ou secas, caules e ramos afetados ou hospedeiros alternativos, posteriormente o inóculo pode dispersar-se por meio do vento ou da água. Uma vez dispersas, elas se aderem à superfície do fruto e podem germinar em 24 horas produzindo o tubo germinal o qual penetra a cutícula do fruto. Após a penetração da cutícula as hifas podem colonizar a parede celular do fruto (BRASULTO *et al.*, 2011). Adicionalmente, o agente etiológico tem a capacidade de quiescência, ou seja, permanece hibernando nos restos das plantas infectadas, resíduos vegetais, como também nas sementes permitindo-lhe sobreviver por um longo período e causar infecção quando se proporcionem as condições adequadas até o início da maturação (DICKMAN; ALVAREZ, 1983; DURÁN *et al.*, 1999).

A doença é caracterizada pela formação de lesões escuras e deprimida, sobre as quais, em condições de alta umidade aparecem frutificações mucilaginosas do fungo (KIMATI *et al.*, 2005). No início das lesões podem ser observadas pequenas manchas marrons que começam a aparecer em todas as partes da casca de frutos em estágio de amadurecimento (VENTURIA *et al.*, 2004). Com o progresso da doença, as lesões aumentam de tamanho, podendo coalescer, formando grandes áreas necróticas, de coloração marrom a preto, deprimidas, que muitas vezes são cobertos por massas de conídios do fungo, as quais são identificadas como pontuações de coloração laranja ou salmão (VENTURIA *et al.*, 2004) (Figura 3). As lesões que se desenvolvem a partir de injúrias em frutos verdes são, normalmente, de coloração preta, acompanhando as dimensões e profundidade da injúria, além de serem delimitadas por halos cloróticos, podendo invadir a celulose sob temperatura elevada (DURÁN *et al.*, 1999).

As condições ambientais desempenham um papel importante no desenvolvimento da doença (LIMA *et al.*, 2012). A duração da umidade sobre a superfície da folha é a que influi diretamente sobre o processo de infecção e crescimento do patógeno sobre a planta, por tanto, os períodos prolongados de chuva aumentam o desenvolvimento da doença. Temperaturas de 27°C e alta umidade em torno de 80% no momento do amadurecimento dos frutos, favorecem a infecção e sua propagação (MARTINS; JÚNIOR CESAR, 2017). Na pós-colheita a fruta deve ser armazenada ou transportada sob condições ambientais que evitem o aparecimento da doença considerando a característica de quiescência do fungo, temperatura de 13°C e 60% de umidade relativa (BRASULTO *et al.*, 2011; MARTINS; JÚNIOR CESAR, 2017).

A composição das práticas de manejo é essencial para evitar o aparecimento da doença no cultivo do mamão (LIMA *et al.*, 2013). Realizar drenagens, para evitar que em condições de alta precipitação a água se estanque aumentando assim a umidade relativa do cultivo. Realizar poda fitossanitária sempre que necessário, eliminar as folhas cloróticas e as senescentes as quais são com frequência, as folhas inferiores da planta, coletar os frutos doentes e frutos caídos, pois são uma fonte de inóculo e no momento da colheita é importante evitar golpear a fruta ou deixá-la cair no chão, por tanto recomenda-se colher fruto por fruto e envolvê-los em papel para evitar o contato com outros frutos (BRASULTO *et al.*, 2011). Além disso, a aplicação de fungicidas com diferentes mecanismos de ação desempenham um papel importante no combate da antracnose (FERREIRA *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2013)



Figura 3 – Sintomas de antracnose em frutos de mamão causando lesões escuras e deprimida de coloração alaranjada

1.2 O gênero *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum* pertencem à classe do Sordariomycetes e da família Glomerellaceae e são encontrados e distribuídos por todo o mundo, abrangendo diversas espécies causadoras de antracnose em muitas culturas (BAILEY; JEGER, 1992; SUTTON, 1992). O fungo caracteriza-se por produzir estruturas reprodutivas ou esporos, chamados conídios, dispostos em acérvulos, os quais participam no processo de infecção da planta (KIMATI *et al.*, 2005). Seus conídios são hialinos e unicelulares, geralmente formados em conjuntos em uma mucilagem de coloração salmão. As células conidiogênicas geralmente são agregadas em acérvulos, mas também podem ser formadas em ramificações laterais do micélio (FARR; ROSSMAN, 2011; MENEZES, 2006; PEREIRA, 2009; PHOULIVONG *et al.*, 2010). O processo infeccioso em plantas inicia pela presença de água sobre as folhas e frutos os conídios germinam produzindo tubo germinativo, em cujo ápice diferencia-se uma célula globosa e melanizada, que se fixa na superfície promovendo adesão, denominada apressório (MENEZES, 2006). Apressórios podem ser formados no promicélio ou diretamente dos conídios ou ascósporos. No início são hialinos e com o passar do tempo tornam-se castanhos ou cinza escuros. Apressórios de *Colletotrichum* spp. apresentam formatos arredondados ou levemente clavados a irregulares. Epidemias de antracnose são favorecidas por temperaturas elevadas, associadas a molhamento foliar quando os conídios são soltos e dispersos dos acérvulos através de respingos de chuva ou irrigação, por insetos, ou mecanicamente disseminados por ferramentas e contato manual (BUFFON, 2010). A água promove a dissociação dos conídios produzidos em mucilagem e dilui

a biotina presente na mesma, que apresenta efeito auto inibitório, impedindo a germinação dos conídios antes da sua dispersão e disseminação (TRINDADE, 2010). Após a deposição dos conídios na superfície da planta hospedeira ocorre a germinação com emissão do tubo germinativo que, no ápice, após septação, diferencia-se em uma célula entumescida, de parede grossa e melanizada. A penetração normalmente ocorre diretamente, pela digestão e compressão pontual da cutícula da planta pelo peg de penetração, que se desenvolve abaixo do apressório (Figura 4) (BAILEY *et al.*, 1992; MENDGEN; DEISING, 1993). Durante o processo de colonização da planta, inicialmente ocorre a fase biotrófica na qual o fungo mantém as células da planta vivas durante a nutrição. Já na fase necrotrófica, o fungo mata as células do tecido vegetal através da produção de enzimas e toxinas e obtém os nutrientes do tecido necrosado, a partir do qual observa-se os primeiros sintomas da doença (JAYAWARDENA *et al.*, 2016). Adicionalmente, *Colletotrichum* sp. tem a capacidade de permanecer nos restos das plantas infectadas, resíduos vegetais, como também nas sementes permitindo-lhe sobreviver por um longo período e causar infecção quando se proporcionem as condições adequadas, que geralmente é o momento do amadurecimento do fruto (MENEZES, 2006).

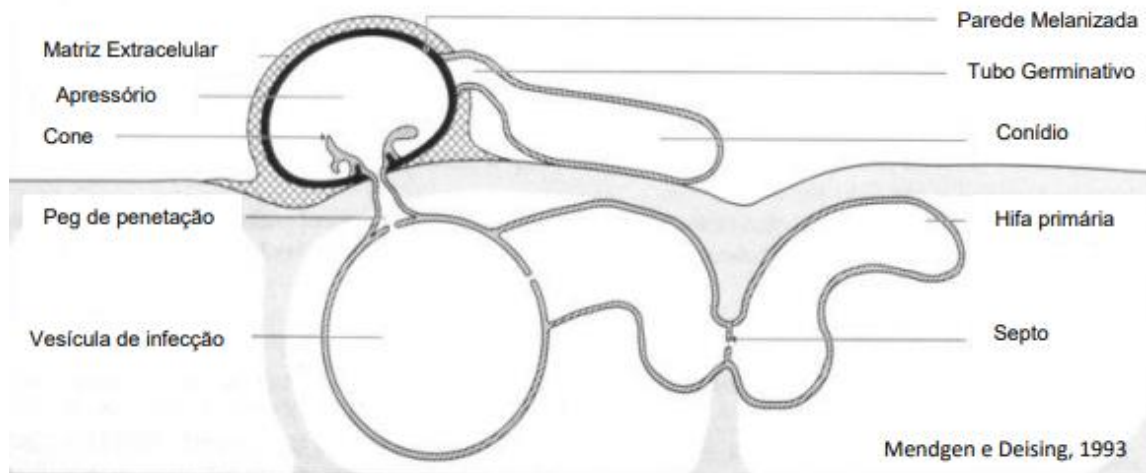


Figura 4 - (Mendgen; Deising, 1993). Esquema simplificado das estruturas de infecção de *Colletotrichum lindemuthianum*. Mostrando conídio, tubo germinativo, apressório, peg de penetração, vesícula de infecção e hifas de colonização em células de planta hospedeira.

Espécies de *Colletotrichum*, foram propostas inicialmente por Tode (1790) recebeu o nome de *Vermicularia* Tode, perdurando assim por quase 50 anos. Em 1837, Corda (1837a) o

reclassificou com a denominação de *Colletotrichum* (teleomorfo *Glomerella* Spauld.; H. Schrenk.). Stoneman, em 1898, encontrou a forma ascógena em antracnose causada por espécies de *Gloeosporium*, sendo assim, ele a colocou em um novo gênero denominado de *Gnomoniopsis* (VON ARX, 1957). Em 1903, Von Schrenk e Spaulding alteraram novamente a classificação, desta vez, o gênero foi classificado como *Glomerella*, contendo cinco espécies. Entretanto, Von Arx concluiu que vários anamorfos dos gêneros *Colletotrichum*, *Vermicularia* e *Gloeosporium* pertenciam ao mesmo grupo, aceitando assim, o nome *Colletotrichum* que foi proposto inicialmente por Corda (VON ARX, 1957). Como consequência dessa decisão houve uma redução considerável do número de espécies de várias centenas para 11, tendo como destaque, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) com mais de 600 sinonímias, sendo a fase anamórfica de *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld; Schrenk (MENEZES, 2006). No entanto, recentes estudos publicados por Damm *et al.* (2012b) mostram que várias espécies consideradas como sinónimos de *C. gloeosporioides* são membros do complexo *C. acutatum* (*C. godetiae*, *Gloeosporium limeticola*, *G. lycopersici* e *G. phormii*) ou o complexo *C. boninense* (por exemplo, *C. dracaenae*).

Colletotrichum spp. podem ocorrer em diferentes famílias de hospedeiros. Neste sentido, é importante dizer que uma simples espécie pode causar doença em vários hospedeiros, como as espécies *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* e *C. graminicola* (Ces.) Wils, assim como um único hospedeiro pode ser atacado por várias espécies de *Colletotrichum*, as quais induzem sintomas da antracnose (DAMM *et al.*, 2012a; CAI *et al.*, 2009; SUTTON, 1980). Por muito tempo os critérios para determinar espécies desse gênero eram baseados em caracteres morfológicos, como dimensões dos conídios, presença, ausência e morfologia das setas. Outros critérios complementares foram incluídos posteriormente, como a gama de hospedeiros e o tipo de dano causado (CAI *et al.*, 2009; SUTTON, 1980).

As dificuldades encontradas na identificação das espécies de *Colletotrichum* estão relacionadas à grande diversidade fenotípica, influência de fatores ambientais na estabilidade dos caracteres morfológicos e culturais, existência de formas intermediárias e falta de padronização de condições culturais empregadas nos diferentes estudos (LOPEZ, 2001). Os métodos moleculares são ferramentas úteis na diferenciação das espécies do gênero *Colletotrichum*. Utilizar caracteres moleculares como dados de sequências de DNA, é uma ferramenta vantajosa para a taxonomia de fungos, uma vez que podem ser analisadas estatisticamente e inferir relações

filogenéticas (LOPEZ, 2001). Segundo Shenoy, Jeewon e Hyde (2007), afirmaram que combinar conceitos de espécie filogenética com caracteres moleculares pode superar a maioria das limitações associadas ao conceito biológico e outros conceitos de espécie. Com o rápido progresso dos métodos de filogenia molecular, atualmente é possível reconhecer clados estáveis e bem resolvidos dentro do gênero *Colletotrichum* (CAI *et al.*, 2009).

O entendimento das espécies de *Colletotrichum* e dos processos pelo qual evoluíram, sofreram várias mudanças ao longo dos anos. A partir da publicação de Cannon *et al.* (2008), foram realizados vários estudos regionais, que exigiram análises de múltiplos genes, mostrando que espécies anteriormente descritas como *C. gloeosporioides*, eram filogeneticamente distintas da estirpe ex-epítipo e que na verdade pertenciam a outras espécies como *C. fragariae*, *C. musae* e *C. Kahawae*. No início do século, expressou-se preocupação sobre a ampla variação genética constituinte entre as espécies de *Colletotrichum*, como por exemplo, a espécie *C. gloeosporioides* que por muito tempo foi identificada somente pelo gene ITS (Espaço interno transcrito) (CANNON *et al.*, 2008). Segundo Mills, Hodson e Brown (1992) oligonucleotídeos baseados nessa região foram utilizados nos últimos 10 anos como um primer espécie-específico para *C. gloeosporioides*. Devido à facilidade de obtenção das sequências e à extensa biblioteca existente, a região ITS ainda é muito utilizado para construção das relações interespecíficas entre espécies, porém, é necessária uma designação de um ex-epítipo para estabilizar a aplicação do nome de algumas espécies descritas (LIU *et al.*, 2015). Doyle *et al.* (2013) analisaram individualmente a região do ITS e os genes TUB2, APN2 (DNA liase) e APN2/MAT-IGS (região intergênica entre os genes APN2 e MAT1-2-1) em estudo envolvendo isolados do complexo de espécies *C. gloeosporioides*. Foi constatado novamente que a região ITS não fornece resolução adequada para a atribuição de espécies, e para avaliação das relações filogenéticas dentro do complexo *C. gloeosporioides*. As demais regiões analisadas apresentaram uma melhor resolução filogenética sendo revelados um maior número de clados terminais. O marcador APN2 /MAT-IGS tem sido empregado em vários estudos recentes, sendo reconhecido como o melhor marcador para a resolução de espécies dentro do gênero *Colletotrichum* (DOYLE *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2015). O APN2 também foi relatado como tendo alto sinal filogenético (SILVA *et al.*, 2012), embora tenha sido utilizado em poucos estudos (DOYLE *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2012). Análises filogenéticas, principalmente baseadas em sequências de regiões do rDNA, têm indicado que os complexos de espécies de *Colletotrichum* compreendem um número variável de clados

monofiléticos. No entanto, essas sequências não são o suficientemente variáveis para diferenciar linhagens intimamente relacionadas. O desenvolvimento e uso de outros loci mais informativos como GPDH (glicerol-3-fosfato desidrogenase) CAL (calmodulina), ACT (actina), CHS-1 (quitina sintase), GS (glutamina sintase), e TUB2 (β - tubulina), tornou-se cada vez mais necessário (CAI *et al.*, 2009).

Outras técnicas moleculares têm sido utilizadas para estabelecer relações genéticas entre isolados de *Colletotrichum* de uma mesma espécie ou de espécies diferentes. Os avanços nos estudos moleculares têm permitido a descrição de novas espécies de *Colletotrichum* (CAI *et al.*, 2009). Na edição de 2008 do Dicionário de Fungos, 60 espécies do gênero foram sugeridas. Posteriormente, Hyde *et al.* (2009), sugeriram 66 espécies de deste patógeno. Atualmente as espécies de *Colletotrichum* são organizadas em complexos. De acordo com Marin felix *et al.* (2017), 188 espécies de *Colletotrichum* foram descritas e incorporadas em filogenias. Entre estas espécies, 164 foram distribuídas dentro de 14 complexos de espécies e 24 espécies adicionais não fazem parte de nenhum complexo (CAO *et al.*, 2018; DAMM *et al.*, 2019; SAMARAKOON *et al.*, 2018). Devido às diferenças que ocorrem entre espécies de *Colletotrichum*, é fundamental O que uma abordagem polifásica deva ser adotada antes de novas espécies de *Colletotrichum* serem introduzidas ou epitipos serem designados a realização de estudos voltados à identificação específica dos agentes causais da antracnose de um dado hospedeiro (CAI *et al.*, 2009). Essas informações são essenciais para o desenvolvimento de métodos de controle químico, genético ou cultural, os quais tornam possível o manejo adequado da doença (FIRMINO *et al.*, 2014).

1.3 Epidemiologia comparativa da antracnose no mamão

O gênero *Colletotrichum* apresenta uma ampla distribuição geográfica, em ambientes quentes e úmidos dos trópicos, causando danos em diversas culturas (AMORIM, 2008; CANNON *et al.*, 2012; SOARES; LOURENÇO; WEIR *et al.*, 2012). Espécies de *Colletotrichum* são consideradas de grande importância para o mundo, pois são espécies que possuem uma ampla gama de hospedeiros (CAI *et al.*, 2009).

O estudo sobre a patogenicidade específica a determinado hospedeiro ou grupo de hospedeiros, é utilizado como método auxiliar na identificação de espécies de *Colletotrichum*, sendo importante para determinar se o patógeno em particular é específico do hospedeiro ou tem uma ampla gama de espécies hospedeiras. Quando o patógeno é específico de um único

hospedeiro pode ser afetados por inúmeras espécies de *Colletotrichum* como por exemplo frutos de morango infectado por *C. acutatum*, *C. fragariae* e *C. gloeosporioides*; abacate e manga infectados por *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*; amêndoa e outros frutos decíduos infectados por *C. acutatum* ou *C. gloeosporioides* (FREEMAN *et al.*, 1998). Por outro lado, se o grupo taxonômico tem uma ampla gama de hospedeiros, a espécie é passível de ser cosmopolita e um provável agente patogênico oportunista. Espécies únicas de *Colletotrichum* geralmente infectam múltiplos hospedeiros como por exemplo *C. acutatum*, que causa antracnose em muitas frutas e culturas ornamentais, incluindo maçã, abacate, amêndoa, anêmona, mirtilo, citros, uva, tremoço, pêssego e morango; e *C. gloeosporioides*, encontrado em uma ampla variedade de culturas de frutas, incluindo amêndoa, abacate, maçã e morango (BANDGAR; BARHATE; RAGHUWANSHI, 2018). Sanders e Korsten (2003) realizaram a inoculação de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em manga, morango, pimenta, goiaba e mamão. Foram observados sintomas dos em todos os frutos demonstrando a ampla gama de hospedeiros dessa espécie. Os resultados obtidos também por Wahid (2001) demonstraram que cinco isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* extraídos do mamão conseguiram deixar frutos de goiaba doentes. Kumara e Rawal (2004) também estudaram a especificidade de *Colletotrichum gloeosporioides* inoculando isolados de banana, manga, uva e romã em frutos de mamão. Os resultados mostraram que os isolados de manga causaram 100% de infecção em frutos de mamão e o isolado de banana infectaram 90% dos frutos de mamão, enquanto os isolados de uvas e romã não causaram nenhuma infecção no mamão. No entanto, nenhum dos isolados foi encontrado para ser específico do hospedeiro.

A temperatura também exerce grande influência sobre desenvolvimento dos fungos, tanto no crescimento micelial limitando o diâmetro das lesões desenvolvidas sobre o hospedeiro, quanto na esporulação e germinação de conídios e formação de apressórios (POLTRONIERI *et al.* 2013). O efeito inibidor da temperatura sobre o crescimento dos fungos é bastante variável. Cada fungo exige uma faixa de temperatura ideal para esporular, sendo que há fungos que reduzem sua esporulação sob baixas temperaturas e aumentam à medida que a temperatura se eleva, até atingir um ponto máximo ou o ponto ótimo para a esporulação, podendo também ocorrer o oposto (POLTRONIERE *et al.*, 2013). As condições climáticas favoráveis para a ocorrência de epidemias de antracnose são temperaturas entre 20 e 30 °C, com o ótimo em torno de 28°C e umidade relativa do ar superior a 95 % (QUIMIO, 1973). Em estudo realizado no norte

do Espírito Santo para monitoramento da antracnose do mamoeiro, foi constatada incidência de frutos entre 68,5% e 100% entre os meses de novembro e janeiro, com temperatura média de 28°C e precipitação pluviométrica de 200 mm por mês, que constituem as condições climáticas favoráveis para a dispersão e desenvolvimento de *Colletotrichum* (TATAGIBA *et al.*, 2002). Bonde, Pozza e Abreu (2005) determinaram, que a temperatura de 28°C era ótima para isolados de *Colletotrichum* spp. provenientes do cafeeiro. Os autores ainda observaram o incremento no crescimento com a elevação da temperatura até 28°C, e a temperatura ótima de crescimento também dependeu do isolado, ocorrendo entre 25°C e 30 °C. Lu *et al.* (2018) observaram a temperatura ótima de *C. truncatum* isolado de soja de 25°C, enquanto que a de *C. siamense*, *C. fioriniae* e *C. karstii* coletada de plantas de camélia era de 26 a 28°C. Segundo Poltrini *et al.* (2013), a temperatura ótima para o desenvolvimento dos isolados testados de *C. gloeosporioides* foi a de 28°C quando considerado. Pesquisadores da embrapa Semiárido testou em frutos de mangueira isolados de *C. gloeosporioides* e percebeu que o efeito inibidor da temperatura sobre o crescimento dos fungos é bastante variável, porém a maioria dos patógenos apresenta melhor desenvolvimento entre 20°C e 25°C. Tozze Junior *et al.* (2006), estudando o crescimento de colônias de isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de solanáceas, constataram que o desenvolvimento das colônias ocorreu na faixa de temperatura entre 25°C e 28°C e Vinnere (2004) relata que a temperatura ótima para o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* encontra-se entre 26°C e 28,5°C, e o crescimento é paralisado a 35,5°C. Estudos dos efeitos do ambiente no desenvolvimento do patógeno muitas vezes podem auxiliar na elaboração de estratégias de manejo de doenças. A temperatura e umidade na superfície da planta são fatores que afetam o progresso da doença (SILVEIRA *et al.*, 2001) e são capazes de funcionar como reguladores da velocidade com que se desenvolvem as epidemias (POLTRONIERI *et al.* 2013).

O controle químico é o método de controle mais comum contra a antracnose. Seu uso é relativamente fácil se comparado a outros métodos, e propicia resultados efetivos contra a doença (PRESTES, 2003). O uso dos defensivos agrícolas visa à interposição de uma barreira efetiva entre as partes suscetíveis das plantas e o inóculo do patógeno, eliminando ou reduzindo a taxa de penetração e de colonização nos tecidos do hospedeiro (VENTURA, 2003). O controle químico das doenças de pós-colheita do mamoeiro concentra-se em uma série de fungicidas pertencentes aos benzimidazóis, imidazol e bisditiocarbamato. A efetividade desses fungicidas está de acordo com a dose aplicada, estágio de maturação, resposta da sensibilidade do fungo ao composto

químico empregado, tempo de aplicação e outros fatores (BAUTISTA-BAÑOS *et al.*, 2013). Os métodos químicos atuam sobre patógenos em fermentos ou sobre aqueles de infecção quiescente possuindo grande vantagem de seu efeito residual, o que garante proteção durante o armazenamento prolongado dos frutos (BENATO *et al.*, 2001). Os fungicidas apresentam resultados rápidos, facilidade na aplicação, por isso sua utilização esta cada vez mais difundida. Entretanto vem enfrentando sérios problemas com o surgimento de estirpes de fungos fitopatogênicos sensíveis na população (LOPES *et al.*, 2015). A pressão de seleção promovida por moléculas de fungicidas frequentes na lavoura geram grandes problemas como a sensibilidade a fungicida (LOPES *et al.*, 2018). Alguns fungos quando ameaçados ativam mecanismos de variabilidade ligada a mutação ou reprodução sexual, por exemplo, para expressão de genes que ativem a insensibilidade ou resistência a fungicidas. Pesquisadores tem se referido ao fenômeno da resistência como uma perda de sensibilidade dos fungos aos produtos, resultando em uma diminuição da eficiência destes sob condições de campo (LOPES *et al.*, 2018). Pode-se dizer que o fenômeno da resistência teve início com o surgimento dos fungicidas sistêmicos, devido seu mecanismo de ação ser definido como “sítio – específico”, o fungicida agindo em apenas determinadas rotas m metabólicas dos fungos (RODRIGUES *et al.*, 2007). Além disso, o uso permanente de fungicidas, doses elevadas, excesso de aplicações e o mau uso, pode levar ao aparecimento de variações em função da resistência dos fungos (GAMAGAE, *et al.* 2003). A antracnose em frutos de mamão pode atingir altos níveis de dano econômico e ser facilmente introduzida e disseminada. Sob fatores ambientais favoráveis a doença, o uso de fungicidas pode se tornar a única alternativa viável (LOPES *et al.*, 2015). O controle da antracnose deve ser realizado de forma preventiva com pulverizações quinzenais, utilizando produtos à base de cobre, benzimidazol mais chlorotalonil ou mancozeb (AGROFIT, 2014). Azevedo (2007) demonstrou que o grupo químico dos Bezimidazóis, como o Tiofanato metílico, apresenta dentre os demais grupos químicos o maior número isolados sensíveis a este fungicida. Este efeito se deve a seu mecanismo de ação sítio – específico, agindo no gene β – tubulina que tem papel importante na divisão celular, e sua mutação impede a ligação com o fungicida (LOPES *et al.*, 2015).

Diante dos diversos estudos relacionados ao gênero *Colletotrichum*, é importante se obter o conhecimento da antracnose na associação de espécies do gênero em frutos de mamão e seus aspectos epidemiológicos no Brasil. Ainda permanece a dúvida sobre qual a espécie de

Colletotrichum está relacionada a antracnose em frutos de mamão. Responder a essa pergunta é de grande importância visto que a partir da correta identificação de espécies de *Colletotrichum*, pode -se determinar a virulência e prevalência na principais regiões produtoras do fruto e determinar suas especificidades quanto a temperatura ótima de crescimento micelial, produção de conídios e gama de hospedeiros. Essas informações são fundamentais para a elaboração de estratégia de manejo da antracnose ocasionadas por estes agentes fitopatogênicos em frutos de mamoeiro visando sempre o alto desenvolvimento da produção e minimizando o impacto da doença sobre esta cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

AGROFIT - Disponível em:

<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 16/ jan/ 2019.

AZEVEDO, L. A. S. Fungicidas sistêmicos: teoria e prática. Fundamentos para o uso racional. **Emopi Gráfica Editora Ltda**, p. 290, 2007.

BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. *Colletotrichum*: biology, pathology and control. Wallingford: **Centre for Agriculture and Biosciences International**, 1992.

BASULTO, F.; PLAZA, R.; ALONSO, O.; FERNÁNDEZ, J; SAAVEDRA, Y. A. Control de dos especies de *Colletotrichum* causantes de antracnosis en frutos de papaya Maradol. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, p. 631-643, 2011.

BAUTISTA-BANÕS, S.; SIVAKUMAR, D.; BELLO-PÉREZ, A.; VILLANUEVAARCE, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. A review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. **Postharvest Biology and Technology**, v. 4, p. 8-20, 2013.

BANDGAR, M. S.; BARHATE, B. G.; RAGHUWANSHI, K. S. Host range of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from various crops in Western Maharashtra Maharashtra. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 2018.

BENATO, E. A., CIA, P.; SOUZA, N. L. Manejo de doenças de frutas pós-colheita. **Revisão anual de patologia de plantas**, v. 9, p. 403-440, 2001.

BUFFON, R. B. Efeito de extratos de cravo da índia e pimenta malagueta no controle “in vitro” do *Colletotrichum gloeosporioides* In: Encontro latino americano de iniciação científica. **Encontro latino americano de pós-graduação**, 2010.

CAI, L., HYDE, K. D.; TAYLOR, P.W.J.; WEIR, B.; WALLER, J.; 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**, v. 39, p. 183–124, 2009.

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

CAO, X.; XU, X.; CHE, H.; WEST, J.S.; LUO, D. Three *Colletotrichum* Species, Including a New Species, are Associated to Leaf Anthracnose of Rubber Tree in Hainan, China. **Plant Disease** 103, 117–124. 2018. CANNON, P. F, BUDDIE, A. G, BRIDGE, P. D. The typification of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Mycotaxon**, v. 104, p. 189–204, 2008.

- COSTA, A. N.; COSTA, A. F. S.; FERREGUETTI, G. A. Cultivo do mamoeiro: manejo da fertilidade do solo e da nutrição do mamoeiro. **Informe Agropecuário**, v. 34, n. 275, p. 38-47, 2013.
- CORDA, A. C. I. Abtheilung: die pilze Deutschlands. In: STURM, J. (Ed.). Deutschlands flora in abbildungen nach der natur mit beschreibungen. **Nürnberg**, v. 3, n. 12, p. 41-42, 1837a.
- CHEN, M. H., CHEN, C. C., WANG, D.N., CHEN, F. C. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of *Carica papaya* x *Carica cauliflora* cultured in vitro. **Canadian Journal of Botany**, v. 69, n.9, p. 1913-1918, 1991.
- DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDEBERG, J. H. C.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 37–113, 2012.
- DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDEBERG, J. H. C.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S.; TAN, Y. P.; SHIVAS, R. G.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 1-36, 2012b.
- 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**, v. 92, p. 1–46, 2019.
- DICKMAN, M. B.; ALVAREZ, A. M. Latent infection of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Disease**, v. 67, p. 748-750, 1983.
- DIAS, M. D.; POZZA, E. A.; ABREU, M. S; MIRANDA, E. O. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de Coffea arábica. **Ciência agrotécnica**, v. 29, 2005.
- DOYLE, V. P.; OUDEMANS, P. V.; REHNER, S. A.; LITT, A. Habitat and host indicate lineage identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s. l. from wild and agricultural landscapes in North America. **PLoSone**, San Francisco, v. 8, 2013.
- DURÁN, A.; MORA, D.; CHAVARRÍA, E. Determinación de la edad susceptible del fruto de la papaya (*Carica papaya* L.) a la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). **Agronomía Meso americana**, v. 10, p. 1-6. 1999.
- EMBRAPA. **Polos de produção de mamão no Brasil**. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/154702/1/DOC-217-Publica-056-15-Cicero.pdf>>. Acesso em: 20 / jan / 2019.
- FAOSTAT. **Statistics Division**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/e>>. Acesso em: 18 / jan / 2019.
- FARR, D.F.; ROSSMAN A.Y. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory. ARS, **USTDA**, 2011.

FERREIRA, E. M. S.; MALTA, C. M.; BICALHO, J. O.; PIMENTA, R. S. A safe method to control the anthracnose in papaya. **Rev. Bras. Frutic.** v.40, n.3, 2018.

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

GALEANO, E. V.; MARTINS, D. S. Evolução da produção e comércio mundial de mamão. **VI simpósio do papaya brasileiro**. INCAPER, 2015.

GAMAGAE, S. U.; SIVAKUMAR, D.; WILSON WIJERATNAM, R. S., WIJESUNDERA, R. L. C. Use of sodium bicarbonate and *Candida oleophila* to control anthracnose in papaya during storage. **Crop Protection**. v. 22, p. 775–779, 2003.

GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. **Comunicado técnico, Embrapa meio ambiente**, p. 72, 2002.

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

JAYAWARDENA, R. S.; HYDE, K. D.; JEEWON, R.; LI, X. H.; LIU, M.; YAN, J.Y. Why is it important to correctly name *Colletotrichum* species? **Mycosphere**, 2016.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (eds.) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 3.ed. São Paulo: **Agronômica Ceres**, v.2. p. 452-462, 1997.

KUMARA, K. L.; RAWAL, R. D. Cross infectivity and survivability of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from papaya. **Proceedings of second academic session**, p. 27-32, 2004.

LIU, F.; WEIR, B. S.; DAMM, U.; CROUS, P. W, WANG, Y.; LIU, B.; WANG, M.; ZHANG, M.; CAI, L; Unravelling *Colletotrichum* Species Associated with Camellia: Employing ApMat and GS Loci to Resolve Species in the *C. gloeosporioides* complex. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 35, p. 63-86, 2015.

LIMA, J. R.; VIANA, F. M. P.; LIMA, F. A.; LIMA, J. S.; PIENIZ, V.; GONÇALVES, L. R. B. Biocontrole de antracnose pós-colheita do mamão com levedura killer. **Boletim de Pesquisa e desenvolvimento**, v. 59, p. 1- 20, 2012.

LIMA, J.R.; GODIM, D. M.F.; OLIVEIRA, J.T.A.; OLIVEIRA, F.S.A.; GONÇALVES, L.R.B.; VIANA, F.M.P. Use of killer yeast in the management of postharvest papaya anthracnose. **Postharvest Biology and Technology**, v. 83, p. 58–64, 2013.

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 9, p. 291-338, 2001.

LOPES, L. N. S.; SILVA, A. S.; PEREIRA, C. C. O.; MENEZES, I. P. P.; MALAFAIA, G.; LIMA, M. L. P. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal**, p. 106-114, 2015.

MADDEN, L. V.; YANG, X.; WILSON, L. L. Effects of rain intensity on splash dispersal of *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, p. 864-874, 1996.

MARTINS, D. S. Situação atual da produção integrada de mamão no Brasil. In: MARTINS, D. S. (Ed.). Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno. Vitória: **Incaper**, p. 95-128, 2003.

MARTINS, J. A. B.; JÚNIOR CESAR, L. S. Potential control of anthracnose in papaya (*Carica papaya*) by treatment with plant extracts Controle potencial. **Revista Biociências**, v. 23, n. 1, p. 61-68, 2017.

MARIN, S. L. D. Mamão Papaya: Produção, pós-colheita e mercado. **Instituto Frutal**, 2004.

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.; HERNANDEZ-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: GOPHY 1. *Studies in Mycology* 86, 99–216. 2017.

MEDINA, M. C. Cultura. In: ITAL. Mamão: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos: **ITAL**, p. 1-177, 1995.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 3, p. 170-179, 2006.

MILLS, P. R.; HODSON, A.; BROWN, A. E. Molecular differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates infecting tropical fruits. In: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*, p. 269–288, 1992.

OLIVEIRA, A. M.G.; SOUZA, L. F. S.; VAN RAIJ, B.; JESUS, A. F.; BERNARDI, M. A. C. C. Nutrição, calagem e adubação do mamoeiro irrigado. Circular técnica. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 2004.

OLIVEIRA, A. M. G.; FARIAS, A. R. N.; SANTOS FILHO, H. P.; OLIVEIRA, J. R. P.; DANTAS, J. L. L.; SANTOS, L. B.; OLIVEIRA, M. A.; SOUZA JÚNIOR., M. T.; SILVA, M. J.; ALMEIDA, O. A.; NICKEL, O.; MEDINA, V. M.; CORDEIRO, Z. J. M. Mamão para exportação: Aspectos técnicos da produção. Brasília: **Embrapa-SPI**, 1994.

PEREIRA, W. V. Caracterização e identificação molecular de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose da goiaba no Estado de São Paulo. **Dissertação (Mestrado)** - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

POLTRONIERI, T. P. S.; AZEVEDO, L. A. S.; SILVA, D. E. M. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, isolados de frutos de palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart). **Summa Phytopathologica**, v.39, n.4, p. 281-285, 2013.

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**, p. 33-43, 2010.

RESENDE, G. M.; DIAS, R. C. S.; COSTA, N. D. Sistema de produção de mamoeiro. **Comunicado técnico Embrapa**, 2010.

RODRIGUES, M. B. C.; ANDREOTE, F. D.; SPÓSITO, M. B.; VILDOSO, C. I. A.; ARAUJO, W. L.; KLEINER, A. A. P. Resistência a benzimidazóis por *Guignardia citricarpa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2007.

RUGGIERO, C.; MARIN, S.; DURIGAN, J. F. Mamão, uma história de sucesso. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, 2011.

SAMARAKOON, M. C.; PERŠOH, D.; HYDE, K. D.; BULGAKOV, T. S.; MANAWASINGHE, I. S.; JAYAWARDENA, R. S.; PROMPUTTHA, I. *Colletotrichum acidiae* sp. nov. from northern Thailand and a new record of *C. dematium* on *Iris* sp. **Mycosphere**, p. 583–597, 2018.

SANDERS, G. M.; KORSTE, L. Comparison of cross inoculation potential of South Africa avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Microbiol. Res**, p. 143-150, 2003.

SANTOS, C. E. Anuário brasileiro de fruticultura. **Gazeta Santa Cruz**, 2013.

SANTOS FILHO, H. P.; OLIVEIRA, A. A. R.; NORONHA, A. C. S.; SANCHES, N. F.; LOPES, F. F.; ANDRADE, P. R. O.; OSÓRIO, A. C. B.; SOUZA, J. A.; LIVEIRA, A. M. G.; SANTOS, M. J. Monitoramento e controle da pinta preta do mamoeiro. Cruz das Almas: **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, p. 5, 2007.

SERRANO, L. A. L.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, 2010.

SHENOY, B. D.; JEEWON, R.; BHAT, D. J.; THAN, P. P. Morpho-molecular characterisation and epitypification of *Colletotrichum capsici* (*Glomerellaceae*, *Sordariomycetes*), the causative agent of anthracnose in chilli. **Fungal Diversity**, p. 197–211, 2007.

SILVA, D. N.; TALHINAS, P.; VÁRZEA, V.; CAI, L.; PAULO, O.S.; BATISTA, D. Application of the *Apn2/MAT* locus to improve the systematics of the *Colletotrichum*

- gloeosporioides* complex: An example from coffee (*Coffea* spp.) hosts. **Mycologia**, Lawrence, v. 104, p. 396–409, 2012.
- SILVEIRA, N. S. S.; MICHEREFF, S. J.; MARIANO, R. L. R.; TAVARES, L. A.; MAIA, L. C. Influência da temperatura, período de molhamento e concentração do inóculo de fungos na incidência de podridões pós-colheita em frutos de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, p. 33-38. 2001.
- SOARES, A. R.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L. Infecção de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e período de molhamento. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 4, p. 265- 272, 2008.
- SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford: **Centre for Agriculture and Biosciences International**, p. 1-26. 1992.
- SUTTON, B. C. The Coelomycetes: fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Kew: **Commonwealth Mycological Institute**, p. 696, 1980.
- TEIXEIRA JÚNIOR, T.; PEREIRA, A. O.; LAGARES, E. A.; LIMA, F. A.; BARROS, P. P. Guia prático para a produção de mamão. **Secretaria de Agricultura, pecuária e aquicultura do estado de Tocantins**, 2019.
- TODE, H. J. Fungi Mecklenburgenses selecti: New fungorum genera complectens. Lüneburg: **Lemke**, v. 1, p. 31. 1790.
- TRINDADE, A. V. Produção de Mamão, aspectos técnicos. **EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Cruz das Almas, 2010.
- VENTURIA, J. A.; COSTA, H., TATAGIBA, J. S. Papaya diseases and integrated control. **Plant pathologist**, v.11, p. 201- 268, 2004.
- VENTURIA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. S. Manejo de doenças do mamoeiro. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. F. S (Eds). A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória, **Incaper**, p. 229-307, 2003.
- VON ARX, J. A. Revision der zu *Gloeosporium gestellten* pilze. **Naturkunde**, Amsterdam, v.51, p. 1-153, 1957.
- WAHID, O. A. A. Occurrence of anthracnose disease of guava fruit in Egypt. **Int. J. Pest Management**, p. 147, 2001.
- WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; Damm U. The *C. gloeosporioides* species complex, **Studies in Mycology**, p. 115-180, 2012.
- ZAMBOLIM, L. Controle integrado de doenças em pós-colheita de frutíferas tropicais. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS. **Patologia Pós-colheita de Frutas e Hortaliças**, p. 139- 145, 2002.

CAPÍTULO II

Who causes papaya anthracnose in Brazil?

Who causes papaya anthracnose in Brazil?

Angélica dos Santos Nunes¹. Josiene Silva Veloso¹. Willie Anderson dos Santos Vieira¹. Vinson Patrick Doyle³. Alexandre Reis Machado². Marcos Paz Saraiva Câmara¹

1. Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 52171-900, PE, Brazil.
2. Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 50670-901, PE, Brazil.
3. Department of Plant Pathology and Crop Physiology, Louisiana State University AgCenter, Baton Rouge, Louisiana, United States of America.

Author for correspondence: Marcos Paz Saraiva Câmara, email: marcos.camara@ufrpe.br

RESUMO

O mamão (*Carica papaya* L.) é uma das frutas tropicais de maior destaque no Brasil, sendo cultivado em quase todo território nacional. No entanto apesar da elevada produção, diversas doenças podem acometer a cultura, sendo antracnose responsável por enormes perdas no período pós-colheita. Há relatos de que *Colletotrichum magna* e *Colletotrichum gloeosporioides* eram os principais agentes da antracnose do mamoeiro no Brasil. Entretanto, a identificação dessas espécies foi realizada com base nas sequências do espaço interno transcrito (ITS) e da glutamina sintetase (GS). Atualmente, sabe-se que esses genes não são informativos para o reconhecimento das espécies desse gênero, podendo ter ocorrido uma identificação errônea das mesmas. Além disso, *Colletotrichum magna* não é mais uma espécie válida, necessitando de uma atualização desse estudo. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi identificar espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do mamoeiro. Para tanto, foram realizadas análises moleculares utilizando uma abordagem polifásica com os genes MAT1-2 (APN2/MAT-IGS), calmodulin (CAL), histone-3 (his3), DNA lyase (APN2), β -tubulin (TUB2), glutamine sintetase (GS), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), intergenic spacer between GAPDH and an hypothetical protein (GAP2-IGS), chitin synthase (CHS-1). Foi determinada a etiologia, patogenicidade e prevalência das espécies em frutos de mamão no Brasil. Como resultado da

pesquisa foram obtidos 142 isolados e 10 espécies não relatadas em frutos de mamoeiro no Brasil: *C. okinawense*; *C. plurivorum*; *C. karstii*; *C. chrysophilum*; *C. fructicola*; *C. siamense*; *C. queenslandicum*; *C. gloeosporioides*; *C. scovillei* e *C. theobromicola*, destas, *C. scovillei* e *C. theobromicola*, nunca foram relatadas causando antracnose em frutos de mamoeiro no mundo. Além disso, *C. okinawense* foi identificada como espécie prevalente no Brasil.

Palavras chave: *Colletotrichum okinawense*, mamoeiro, antracnose

ABSTRACT

Papaya (*Carica papaya* L.) is one of the most prominent tropical fruits in Brazil, being grown in almost all national territory. However, despite the high yield, several diseases can affect the culture, being anthracnose responsible for huge losses in the postharvest period. *Colletotrichum magna* and *Colletotrichum gloeosporioides* have been reported to be the main agents of papaya anthracnose in Brazil. However, these species were identified based on the transcribed internal space (ITS) and glutamine synthetase (GS) sequences. Currently, it is known that these genes are not informative for the recognition of species of this genus, and their misidentification may have occurred. In addition, *Colletotrichum magna* is no longer a valid species, requiring an update of this study. Thus, the objective of the present work was to identify *Colletotrichum* species associated with papaya anthracnose. For this, molecular analyzes were performed using a polyphasic approach with genes MAT1-2 (APN2 / MAT-IGS), calmodulin (CAL), histone-3 (his3), DNA lyase (APN2), β -tubulin (TUB2), glutamine synthetase (GS), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), intergenic spacer between GAPDH and a hypothetical protein (GAP2-IGS), chitin synthase (CHS-1). The etiology, pathogenicity and prevalence of papaya fruits in Brazil were determined. As a result of the research 142 isolates and 10 unreported species of papaya fruits in Brazil were obtained: *C. okinawense*; *C. plurivorum*; *C. karstii*; *C. chrysophilum*; *C. fructicola*; *C. siamense*; *C. queenslandicum*; *C. gloeosporioides*; *C. scovillei* and *C. theobromicola*, of these, *C. scovillei* and *C. theobromicola*, have never been reported to cause anthracnose in papaya fruits in the world. In addition, *C. okinawense* was identified as a prevalent species in Brazil.

Keywords: *Colletotrichum okinawense*, papaya, anthracnose

Introduction

The cultivated papaya (*Carica papaya* L.) has its center of origin in Caribe subsequently spread to India, the Pacific and Africa (Trindade 2010). Papaya is one of the most cultivated and consumed tropical fruit (Serrano and Cattaneo 2010). México, Brazil, Nigeria, India and Indonesia are the main producers. Brazil was the second largest producer in 2017, producing 1.4 tons in 30.000 ha (IBGE 2017). High disease incidence has been a strong impediment to sustained production, either by reducing productivity or by compromising the quality of the fruits destined for export (Ferreira et al. 2018; Martins and Blum 2014). Losses in the crop are mainly caused by the incidence of fungi such as *Phytophthora* sp. (Phytophthora fruit rot), *Phoma caricae-papayae* (Black rot), *Asperisporium caricae* (smallpox), *Oidium caricae* (powdery mildew), and *Colletotrichum* spp. (Anthracnose) (Ventura et al. 2004). Papaya anthracnose is the main postharvest disease (Ribeiro et al. 2016), and compromise 70% to 100% of the yield in the hottest months (Suzuki et al. 2007). Symptoms are characterized by dark and depressed lesions, on which spores are produced as disease progress (Kimati et al. 2005).

Nine species distributed in six species complexes are reported causing papaya anthracnose worldwide: *C. brevisporium* (*C. magnum sensu lato*) (Damm et al. 2018; Vieira et al. 2013); *C. okinawense* and *C. plurivorum* (*C. orchidearum s.l.*) (Damm et al. 2019); *C. truncatum* (*C. truncatum s.l.*) (Nunes et al. 2019); *C. queenslandicum* *C. fruticola*, *C. siamenses* (*C. gloeosporioides s.l.*) (Weir et al. 2012; Saine et al. 2016; Rampersad 2011); *C. acutatum* and *C. simmondsii* (*C. acutatum s.l.*) (Peres et al. 2002; Yang et al. 2009); and *C. karstii* (*C. boninense s.l.*) (Damm et al. 2012). *C. brevisporium*, *C. acutatum*, *C. karstii*, *C. truncatum* were the only species reported in Brazil (Damm et al. 2012; Vieira et al. 2013; Peres et al. 2002; Ribeiro et al. 2016).

Nascimento et al. (2009) identified *C. magna* and *C. gloeosporioides* causing papaya anthracnose in Brazil. Species identification was done based on the Internal transcribed space (ITS) and glutamina sintetase (GS) sequences *Colletotrichum magna* is not a valid species and the markers used are not informative for *Colletotrichum* species recognition. A broader study on etiology of papaya anthracnose in Brazil remain necessary. The objective of the present study was to determine the etiology of papaya anthracnose in Brazil, as well as the prevalence and pathogenic potential of the species involved.

Materials and Methods

Sampling and isolation. Papaya fruit at stage 3 of maturation (Ministério da integração nacional 2000) were sampled on comercial orchards in 10 Brazilian states: Espírito Santo (1 municipality), Bahia (2), Santa Catarina (1), Minas Gerais (2), Brasília (1), Paraíba (1), Pernambuco (1), São Paulo (1), Paraná (1) and Rio Grande do Norte (1). Fruit were rinsed with sterile distilled water, and dried at room temperature. Fruit were kept in laboratory branch at 27°C until anthracnose-like symptoms and sign develop. Conidial mass was transferred to Petri dishes containing potato dextrose agar (PDA) (Merck KGaA) supplemented with streptomycin whit 0.5 g/l. Isolates with characteristics of the genus *Colletotrichum* (Suton 1980) were subcutivated on pure culture, and preserved by the Castellani method (Figueiredo 1967). The isolates were deposited in the Collection of the Laboratório de Micologia (CLM) - UFRPE.

DNA extraction. The isolates were grown on PDA for seven days and mycilium produced were used for DNA extration. The genomic DNA was extracted according to Doyle and Doyle (1990) protocol. DNA concentration was accessed on the NanoVue Plus Spectrophotometer (GE Healthcare, USA) and diluted to 25 µL.

Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) assay. The ISSR primers GACA5 and 820 (Freeman and Shabi 1996) were used to accesses the genetic diversity of *Colletotrichum* isolates. PCR amplifications were performed in 12.5 µL volume reaction containing 4 µl of PCR grade water, 1 µl of DNA template, 1.25 µL of primer (10 µM) and 6.25 µL of 2X PCR Master Mix (Promega GoTaq® Master Mix, Wisconsin, USA). Amplifications were done on Applied Biosystems thermal cycler with a denaturation step at 94°C for 5 min followed by 35 cycles of 94 °C for 45 s, at 52 °C for 45 s and 72 °C for 90 s. Amplificons were separated in 2% agarose gel electrophoresis (Ludwig Biotec®) and observed under ultraviolet light. The fingerprints were converted into both individual and concatenated binary matrices. Genetic distance among individuals was accessed on the online application DendroUPGMA (genomes.urv.cat/UPGMA) (Garcia-vallvé and Puigbo 2002). Cluster analysis of the Unweighted Pair Group Method Average (UPGMA) and Jaccard similarity index. One representative isolate of each haplotype was randomly chosen for subsequently analyzes.

Loci amplification and DNA sequencing. The glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) gene was sequenced for representatives of the different haplotypes selected through the ISSR. Sequences were compared with the NCBI database using the Blastn tool (Johnson et al. 2008) identification of the initial identity of the isolates. The intergenic spacer between the 3' end of the lyase DNA and the mating type locus MAT1-2 (APN2/MAT-IGS), calmodulin (CAL), histone-3 (his3), DNA lyase (APN2), β -tubulin (TUB2), glutamine sintetase (GS), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), intergenic spacer between GAPDH and an hypothetical protein (GAP2-IGS) and chitin synthase (CHS-1), were amplified according to their resolution to resolve the species identity in each complex. The references and sequences of primers used are described in Supplementary Table S1.

The PCR cycling parameters for APN2/MAT-IGS and APN2 consisted of initial denaturation step at 95 °C for 5 min followed by 35 cycles at 95 °C for 30 s, 62°C for 45 s, 72°C for 1 min and a final cycle at 72°C for 10 min. The optimal annealing temperature was modified according to loci: GAPDH and GAP2-IGS – 58°C; TUB2 – 53°C; GS – 55°C, CHS-1 and CAL – 57°C. Reactions of PCR were performed as described in the ISSR protocol, change the primer volume to 0.625 μ l. PCR purification and sequencing were carried out by Microgene.

Phylogenetic analysis. Sequence readings were assembled by consensus using the Staden package (Staden et al. 1998). Sequences from other works were compared with sequences from Ex-types and references strain from Genbank were included in the analyzes. Multiple sequence alignments for each individual gene were generated with the online version of MAFFT version 7 with G-INS-i iterative refinement method (Kato and Standley 2013; Kato Rozewicki and Yamada 2017). The poorly aligned regions were filtered by Guidance2 as described by Sela et al (2015). All sequences generated in this study were deposited in GenBank (Suplematary Table S2). Phylogenetic analyzes were performed using the Maximum Likelihood (ML) method for both individual locus and concatenated used RAxML 8.2.10 (Stamatakis 2014) implemented CIPRES respectively (<https://www.phylo.org/portal2/home.action>). ML analyzes were performed with 1000 replicates under the GTRGAMMA model.

Species assignment. Phylogenetic species recognition was performed using the Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition (GCPSR) criteria (Dettman et al. 2003). A clade

was considered an independent lineage when it met at least one of two criteria genealogical concordance or genealogical non-discordance. The genealogical concordance criterion is satisfied if the clade is present in most individual gene trees. The criterion of genealogical non-discordance is reached when a clade is strongly supported by at least one locus in both ML ($\geq 70\%$), and not contradicted in any other individual gene tree with the same level of support. Novel species were recognized if the clade was recognized as a phylogenetic species by the GCPSR criterion, is strongly supported in ML analyze of the concatenated matrix and did not contain the type of any previously described species.

Prevalence of *Colletotrichum* species. Prevalence of *Colletotrichum* spp. was determined by the formula: $P (\%) = (Cx/Ct) \times 100$, where P represents prevalence, Cx the number of isolates of the same species, and Ct the total number of isolates per state.

Pathogenicity and virulence. Pathogenicity and virulence assays were performed on papaya fruits at stage 3 of maturation (Ministério da integração nacional 2000). Fruits were washed with running water and surface disinfested for 3 min in 0.5% NaOCl (Vol/Vol) solution, rinsed in sterile distilled water and air dried at 27°C. Fruit were wounded at 3 points, and 20 μ l of conidial suspension at 10^6 conidia.ml⁻¹ were deposited on the wounds. Fruit inoculated with 20 μ l of sterile distilled water represented the negative control. Inoculated fruit were kept in a humid chamber during 48h at 27°C. Fruit were evaluated 7 days after inoculation. Pathogenicity was verified by the present of typical anthracnose symptoms. Virulence of *Colletotrichum* spp. was evaluated by the mean of orthogonal diameters of lesions. Experiment was arranged in a completely randomized design with three replicates for each species. Differences in virulence were determined by data analysis with a one-way ANOVA, and the means were compared by the Tukey test (P = 0.05) using the Statistix program (Analytical Software, 2008).

Results

Sampling and isolates. A total of 142 isolates with phenotypes characteristics similar to the genus *Colletotrichum* were obtained from lesions or symptomatic fruit of papaya. The isolates were obtained from different Brazilian States, 27 isolates from Bahia, 14 from Espirito Santo, 3 from Distrito Federal 14 from Minas Gerais, 36 from Paraíba, 6 from Pernambuco, 26 Rio Grande do Norte, 12 from Santa Catarina and 4 from São Paulo.

Phylogenetic analysis. A total of 20 fragments were amplified being, 9 of the primer GACA5 and 11 of primer 820. The cluster analysis of the ISSR data defined 41 haplotypes of *Colletotrichum* ssp. From the molecular analysis using the GAPDH gene, five complexes: *Colletotrichum goeosporieodes* complex, *Colletotrichum ochidearum* complex, *Colletotrichum magnum* complex, *Colletotrichum boninense* complex and *Colletotrichum acuntatum*. The genus was identified: *C. okinawense*; *C. plurivorum*; *C. boninense*; *C. karstii*; *C. chrysophilum*; *C. fructicola*; *C. siamense*; *C. queenslandicum*; *C. gloeosporioides* and *C. theobromicola* (Figure 1, 2).

Species assignment. Papaya *Colletotrichum* spp. isolates were assigned to ten previously species described according to GCPSR criteria. A total of ten species were identified from multilocus analysis at the highest support level using ML analyze. Three isolates within the *C. orchidearum* species complex were identified as the *C. plurivorum* with maximum support in multilocus ML analyze and recovered as monophyletic in all individual gene trees. Ten isolates nested with *C. magnum* species from the *C. okinawense* species complex. All isolates from this complex were strongly supported in multilocus analysis. In the *C. acuntatum* complex, one isolate was assigned to *C. scovilliei* species and was strongly supported only in GAPDH individual gene tree. Six species within the *C. gloeosporioides* complex were identified. Two isolates of *C. chrysophilum* and one *C. theobromicola* in the multilocus analysis with maximum level of supported on APMAT, APN2, GS, IGS and TUB individual gene trees. Two other isolates were identified as *C. fructicola* and strongly supported on GAPDH, APN2, GS, IGS and TUB individual gene trees. Six isolates were identified as *C. siamense* and nested by APMAT, APN2 and IGS gene trees. Four isolates were identified as *C. gloeosporioides* and supported by GAPDH, APN2, APMAT, GS, IGS and TUB genes trees. Only one isolate was identified as *C. queenslandicum*, nested by the individual GAPDH, APN2, GS and IGS gene trees.

Prevalence. There was a difference in the prevalence of *Colletotrichum* species associated with papaya anthracnose in Brazil. The overall prevalent *Colletotrichum* species associated with papaya fruits was *C. okinawense* (58%). The other species achieved significant totals in their distribution as *C. gloeosporioides* (10%), *C. karstii* (10%), *C. plurivorum* (4,5%), *C. chrysophilum* (7%), *C. siamense* (4,5%), *C. theobromicola* (2%), *C. fructicola* (2%), *C.*

queenslandicum (1%) and *C. scovillei* (1%). The prevalence of each species varied amongst states (Fig 3). *C. okinawense* was the prevalent species in the states of Paraíba, Bahia, Rio Grande do Norte, Espírito do Santo, Santa Catarina and Pernambuco. *C. karstii* was prevalent in the state of Minas Gerais, and *C. karstii* and *C. plurivorum* were the only species found in the Distrito Federal., in the state of São Paulo the prevalent species were *C. okinawense* and *C. gloeosporioides*.

Pathogenicity and virulence. Of the *Colletotrichum* species tested, all were pathogenic in papaya fruits. No symptoms were observed in fruits used as negative control. For virulence, *C. scovillei* (21,5) and *C. okinawense* (19,25) species differed significantly, proving to be the most virulent among the tested species. *C. chrysophilum* (1,96), *C. queenslandicum* (1,5) and *C. theobromicola* (2,94) also significantly cause little disease, being considered the less virulent species. The symptoms of anthracnose differed significantly ($P < 0.05$) the diameter of the lesions (Table 1).

Discussion

In this study it was possible to identify ten species of *Colletotrichum* sp. associated with papaya, elucidating the anthracnose etiology in this patosystem in Brazil. *Colletotrichum karstii* and *Colletotrichum gloeosporioides*, among the identified species, were the only ones reported causing anthracnose in Brazil. However, *C. gloeosporioides* (Sharma and Kulshrestha, 2015) was identified based only on the Internal Transcribed Spacer marker (ITS), this identification may have been erroneous and not in agreement with the current taxonomic status classification of this species. The great richness found in the *Colletotrichum* species associated with papaya anthracnose in the main producing states of Brazil is reveal for the first time here. Nascimento, (2009) had identified *C. magna* and *C. gloeosporioides* causing the disease in papaya. However, the identification of these isolates was based on the multilocus analyzes of the genes ITS and GS, in which they are not adequate to separate species of this genus (Crouch, Clarke and Hillman, 2009). Using the same isolates for a new phylogenetic analysis, it was observed that what was previously called *C. magna* and *C. gloeosporioides* were recognized as *C. okinawense*, *C. queenslandicum*. Vieira et al (2017) also reported *C. brevisporum* causing anthracnose in papaya. These isolates were also reclassified as *C. okinawense*. Although there are many studies focused

on species identification and phylogenetic relationships, this study demonstrated a high diversity of species found in Brazil. The data presented here provide strong support for future research on the etiology of the genus *Colletotrichum* in papaya fruits in Brazil. Thus, this work demonstrates a general view of *Colletotrichum* diversity associated with papaya and provides useful information for evaluation of pathogenicity and effective control of the disease.

Colletotrichum sp is a polyphagous genus, however there are species that present specificity by certain hosts (Cannon et al., 2012). Numerous cases have been reported in which several *Colletotrichum* species are associated with a single host, for example, strawberry fruits can be infected by three species of *C. fragariae*, *C. acutatum*, and *C. gloeosporioides* (Freeman et al., 1998). However, there are some species that have preference over a host. Some species appear to be restricted to families, genera or species for example; while others have more extensive preference for some hosts (Baroncelli et al, 2017). In this study we observed the prevalence of *C. okinawense* in most states. This result may indicate some level of preference of this species towards papaya fruits. This hypothesis is corroborated by the fact that this species has only been found associated with papaya (Weir et al., 2012). However, this hypothesis has yet to be studied more closely, because species has just recently been described. We cannot yet say that this species is indeed specific to this culture. Pathogenicity studies (Nunes et al. Unpublished data) demonstrated the ability of *C. okinawense* to cause anthracnose in other hosts, indicating its preference for papaya rather than its specificity. This is seems to be rather common in the genus *Colletotrichum*. Australian isolates of *C. acutatum* originated from of almond, blueberry, bell pepper, grape, mango, olive, strawberry and tomato were able to infect grape blueberry and strawberry in *in vitro* inoculations, indicating host preference instead of host specificity (Whitelaw-Weckert-cols, et al. 2007).

The pathogenicity and virulence demonstrated by eight isolates indicate that lesion development can vary considerably due to the interaction of factors such as variety and stage of fruit development, moisture and temperature, and inoculum concentration (Freeman et al. 1998). *Colletotrichum* species showed different level of virulence in papaya fruits. Araujo et al. (2016) identified differences between *C. scovillei*, *C. gloeosporioides* and *C. siamense* isolates at different stages of fruit physiological maturity in four varieties of *Capsicum* and pepper. The lowest level of virulence found in *C. plurivorum* and *C. crysophillum* may be related to a possible resistance of papaya to these species of *Colletotrichum* or the low virulence of these species to

papaya fruits. These species have been little studied in association with anthracnose in papaya fruits because they were just recently reported in Brazil, so further studies on the host pathogen relationship will be needed.

The results of this study identified the occurrence of *Colletotrichum theobromicola* and *Colletotrichum scovillei* never reported causing anthracnose in papaya fruits worldwide. Furthermore this study reported the occurrence of ten *Colletotrichum* species associated with papaya fruits in Brazil. In addition, it also provided the first record of seven species never described in the country causing anthracnose in this pathosystem, namely: *C. chrysophilum*, *C. theobromicola*, *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. quenlandicum*, *C. plurivorum* and *C. scovillei*.

From the collected data it was observed *C. okinawense* as the prevalent species in the main producing regions. *Colletotrichum okinawense* was first reported in 2019 in Japan causing anthracnose in papaya fruits (DAMM et al., 2019). Recently in Brazil, Dias et al. (2019) on multilocus phylogeny concatenated of genes ITS, GAPDH, ACT and HIS3, identified *C. okinawense* causing anthracnose in papaya fruits in Maranhão state. There are no reports available on the host range of this species, behavior at different temperatures and conidial production. This species needs further epidemiological studies to collect adequate data and allow reliable inferences.

The identification of *Colletotrichum* species associated with papaya is an important contribution to a better understanding of the etiology of the disease. The use of a polyphase approach using nine genes leaves no doubt about the reliability of the results obtained. Moreover, the correct identification of the etiologic agent is important for the development of management and additional epidemiological studies practices to an accurate understanding of anthracnose in papaya fruit.

Literature Cited

Analytical Software. Statistix: version 9.0. Tallahassee. 2008. Available at <http://www.statistix.software.informer.com>.

Araújo, N. A. F., Vieira, J.D. M., Moura, M. R., Pessoa, W.R. S., Barguil, B. M. 2016. Pathogenicity and aggressiveness of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates in ornamental pepper. *Pesq. Agropec. Trop.*, v. 46, n. 3, p. 321-326.

Baroncelli, R., Talhinhos, P., Pensec, F. Sukno, S. A. 2017. The *Colletotrichum acutatum* Species Complex as a Model System to Study Evolution and Host Specialization in Plant Pathogens. *Frontiers in Microbiology*.

Cannon, P.F., Damm, U., Johnston, P.R., Weir, B.S. 2012. *Colletotrichum* current status and future directions. *Studies in Mycology*, v. 73, p. 181–213.

Damm, U., Sato, T., Alizadeh, A., Groenewald, J. Z., Crous, P.W. 2019. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. *Studies in Mycology*.

Dias, L. R. C., Brito, R. A. S., Melo, T. A., Serra, I. M. R. S. 2019. First report of papaya fruit anthracnose caused by *Colletotrichum okinawense* in Brazil. *Plant disease*.

Dettman, J.R., Jacobson, D.J., Taylor, J.W., 2003. A multilocus genealogical approach to phylogenetic species recognition in the model eukaryote *Neurospora*. *Evolution* 57, 2703–2720.

Ferreira, E. M. S., Malta, C. M., Bicalho, J. O., and Pimenta, R. S. 2018. A safe method to control the anthracnose in papaya. *Rev. Bras. Frutic.* v.40 n.3.

Figueiredo, M. B. 1967. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para conservação de fungos patógenos em plantas. *O Biológico*, v. 33, n. 1, p. 9-13.

Freeman, S., Shabi, E., Katan, T. 1998. Characterization of *Colletotrichum* Species Responsible for Anthracnose Diseases of Various Fruits. *Plant Disease* 82(6):596-605.

Garcia-vallvé, S., and Puigbo, P. 2002. DendroUPGMA: A dendrogram construction utility. Biochemistry and Biotechnology Department. Universitat Rovira i Virgili (URV). Tarragona. Spain. <http://genomes.urv.cat/UPGMA/> (Accessed 15 april 2018).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. 2017. Mercado da fruticultura, panorama do setor do Brasil. Boletim de inteligência.

Lu, Qinhua., Wang, Yuchun., Li, Nana., Ni, Dejiang., Yang, Yajun., Wang, Xinchao. 2018. Differences in the Characteristics and Pathogenicity of *Colletotrichum camelliae* and *C. fructicola* Isolated from the Tea Plant (*Camellia sinensis* L.). Front Microbiol. 9: 3060.

Katoh K, Standley. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. Molecular Biology and Evolution 30: p. 772–780.

Katoh, K., Rozewicki, J., Yamada, K. D. 2017. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. Briefings in bioinformatics.

Kimati, H., Amorin, L., Bergamim Filho, A., Carminho, L. E. A., and Rezende, J. A. M. 2005. Manual de fitopatologia. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2.

Martins, D. M. S., and Blum, L. S. B. 2014. Redução da antracnose e da podridão seca pós-colheita em mamão por hidrotermia. Revista Caatinga, v. 27, n. 3, p. 98 – 105.

Ministério da Integração Nacional. 2000. Available in: http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_2623.pdf. Access 20/02/2019.

Nascimento, R. J. 2009. Caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas às podridões em frutos de mamoeiro. Tese de doutorado. Universidade Federal Rural de Recife.

Nunes, A. S. 2019. Taxonomia e epidemiologia comparativa de espécies de *Colletotrichum* associadas á antracnose do mamão no Brasil. Tese de doutorado. Universidade Federal Rural de Recife.

- Ruggiero, C., Marin, S.L., Durigan, J. F. 2011. Mamão: uma história de sucesso. Revista Brasileira de Fruticultura, v. especial.
- Nylander, J. A. A. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Uppsala, Sweden.
- Peres, N. A. R., Kuramae, E. E., Dias, M. S. C., Souza, N. L. 2002. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. Journal of Phytopathology 150:128-134.
- Rambaut, A., Drummond, A. J. 2010b. TreeAnnotator version 1.6.1 [computer program] <http://beast.bio.ed.ac.uk>.
- Ribeiro, J. G., Serra, I. M. R. S., and Araújo, M. U. P. 2016. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. Summa Phytopathologica, v.42, n.2, p.160-164.
- Sharma, M., and Kulshrestha, S. 2015. *Colletotrichum gloeosporioides*: An Anthracnose Causing Pathogen of Fruits and Vegetables. Biosciences biotechnology research asia. vol. 12.
- Serrano, L.A.L., and Cattaneo, L. F. 2010. O cultivo do mamoeiro no Brasil. Revista Brasileira de Fruticultura, v.32, n.3.
- Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute; Kew. Suzuki, M. S., Zambolim L., and Liberato, J. R. 2007. Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. Summa Phytopathologica 33:167-177.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. Bioinformatics.
- Suzuki, M. S., Zambolim, L., Liberato, J. R. 2007. Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. Summa Phytopathologica, v.33, n.2, p.167-177.
- Vieira, W. A. S., Lima, W. G., Nascimento, E.S., Michereffa. 2013. First Report of Papaya Fruit Anthracnose Caused by *Colletotrichum brevisporum* in Brazil. Plant Dis. 97:1659.

- Vieira, W. A. S., Lima, W. G., Nascimento, E.S., Michereffa, S.J, Câmara, M.P.S., and Doyle, V. P. 2017. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with *Musa*. *Journal Mycologia*, v. 109.
- Weir, B. S., Johnston, P. R., Damm U. 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* **73**:115-180.
- Whitelaw-Weckert, M. A, Curtin, S. J, Huang, R., Steel, C. C, Blanchard, C. L., Roffey, P.E. 2007. Phylogenetic relationships and pathogenicity of *Colletotrichum acutatum* isolates from grape in subtropical Australia. *Plant Pathology* 56, 448–63.
- Yang, Y. L., Liu, Z.Y., Cai, L., Hyde, K. D., Yu, Z. N. and McKenzie, E. H. C. 2009. *Colletotrichum anthracnose* of Amaryllidaceae. *Fungal Diversity* 39: 123-146.

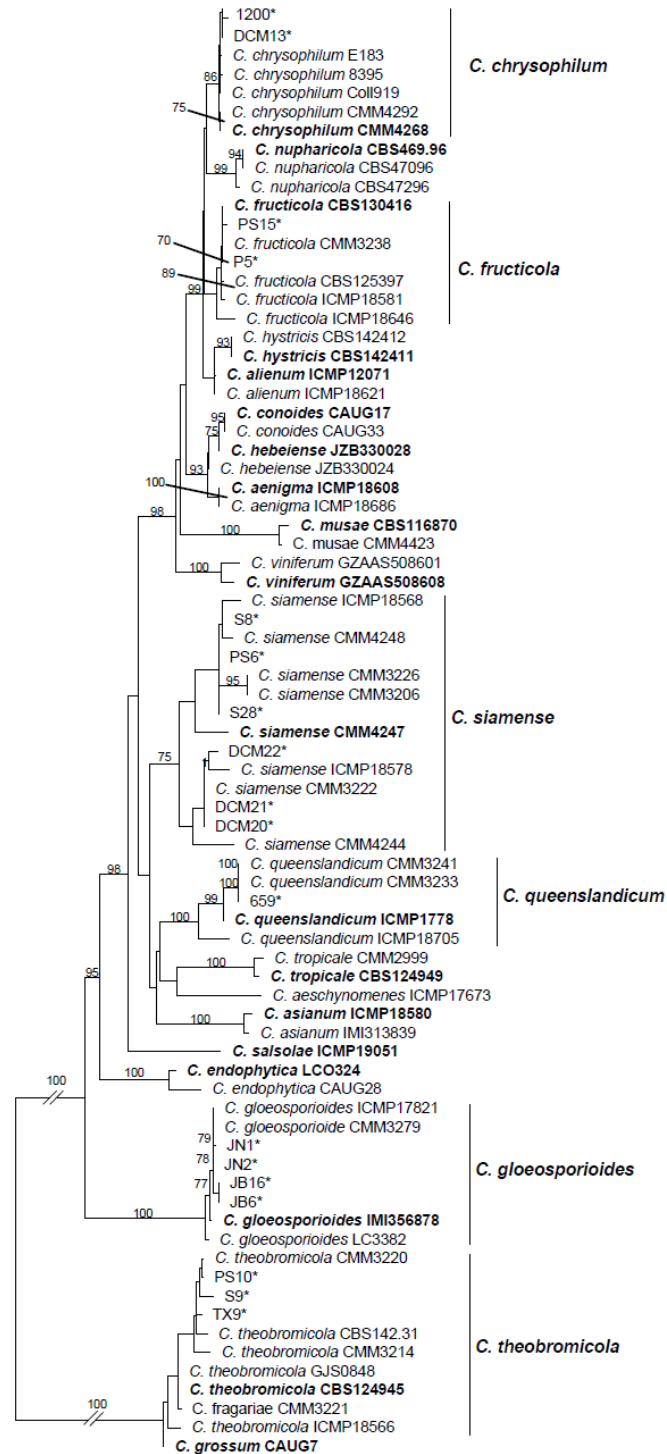


Figure 1 - Maximum likelihood tree of *Colletotrichum gloeosporioides* complex species inferred by concatenated APN2, APN2-Mat / IGS gene alignments, GAPDH, GAP2, GS, TUB, CHS-1, HIS-3 and CAL. Bootstrap support values ($MV \geq 70$) are shown on the nodes.

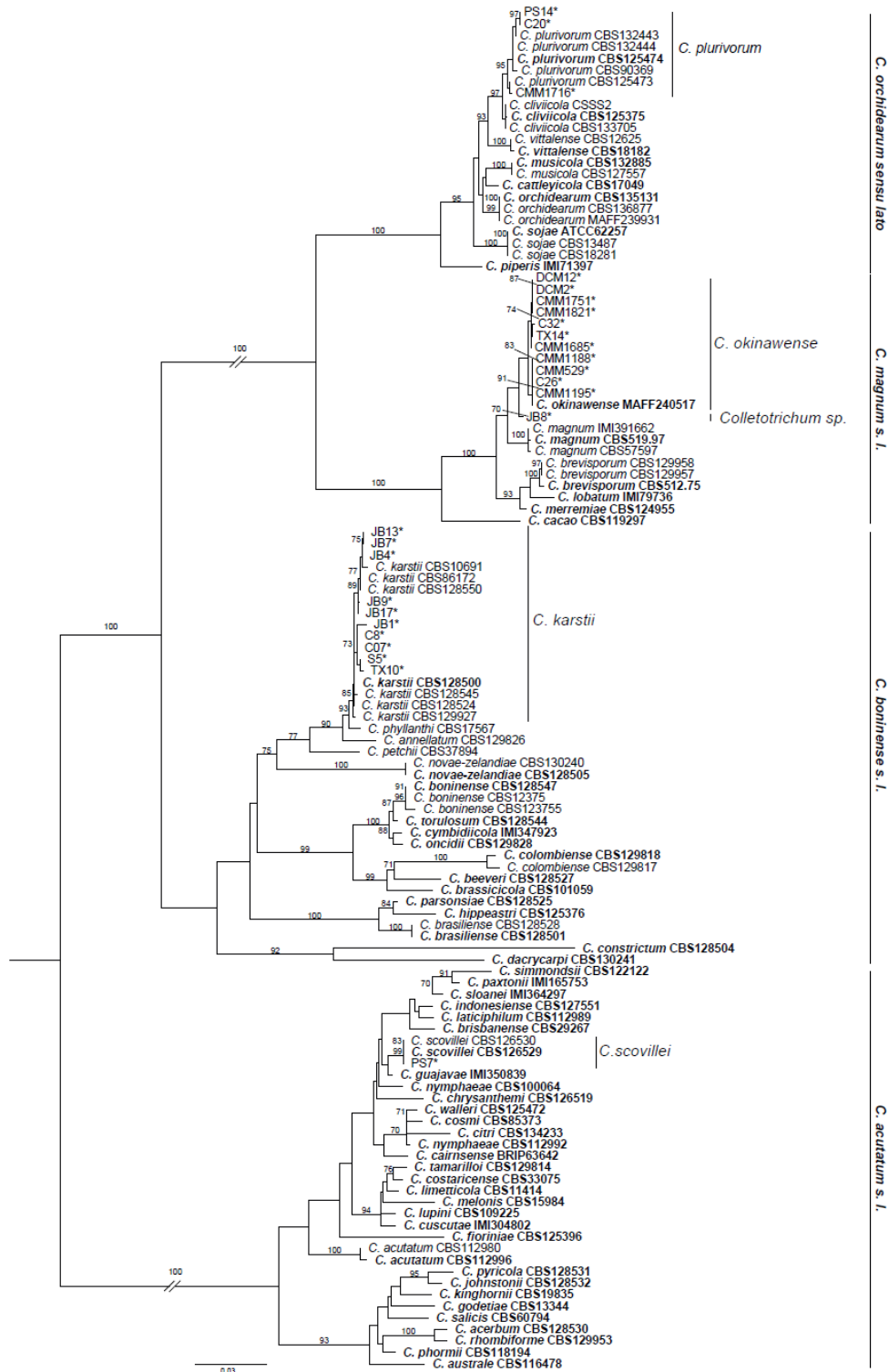


Figure 2 - Maximum likelihood tree of *Colletotrichum orquidearum* complex species, *Colletotrichum magno* complex species, *Colletotrichum boninense* complex species, *Colletotrichum acutatum* complex species inferred by concatenated APN2, APN2-Mat/IGS gene alignments, GAPDH, GAP2, GS, TUB, CHS-1, HS-3 and CAL. Bootstrap support values ($MV \geq 70$) are shown on the nodes.

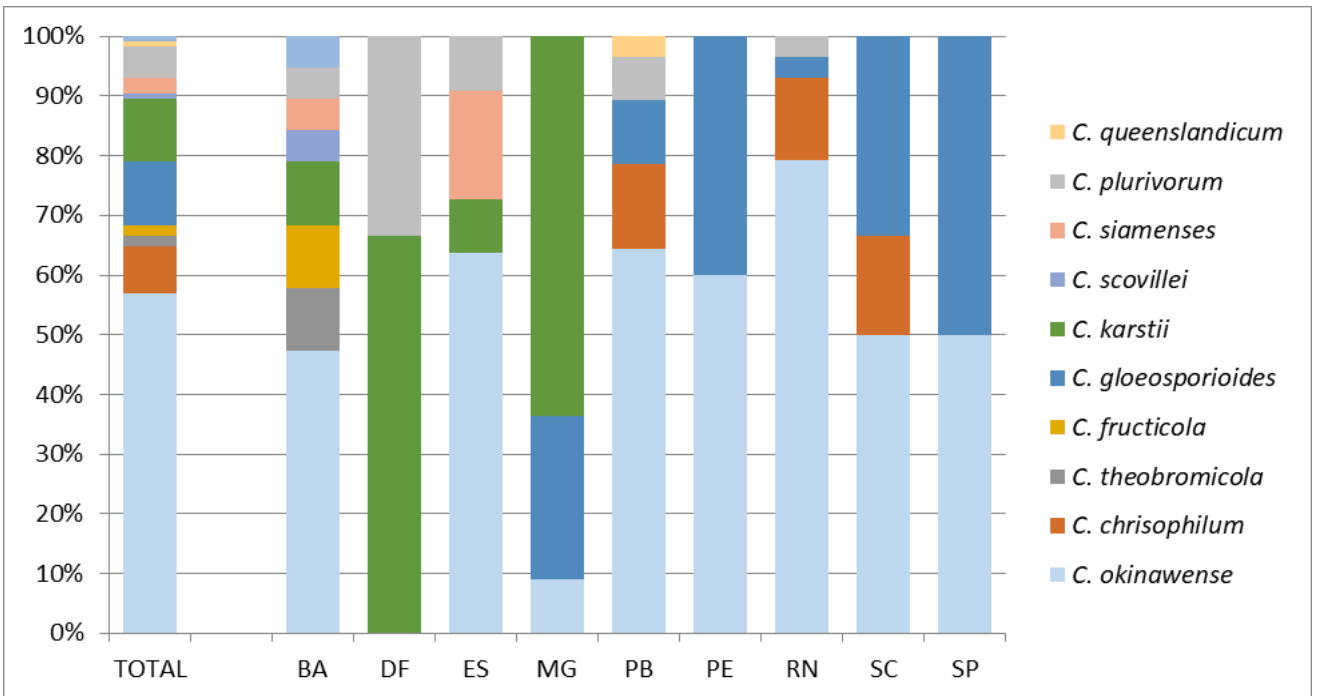


Figura 3 - Prevalência of *Colletotrichum* species for states

Table 1 – Pathogenicity and virulence of *Colletotrichum* species.

Species	Virulence
<i>C. chrysophilum</i>	1,96e
<i>C. fructicola</i>	7,55bcd
<i>C. gloeosporioides</i>	10,22bc
<i>C. karstii</i>	8,88bcd
<i>C. okinawense</i>	19,25 ^a
<i>C. plurivorum</i>	4,94cde
<i>C. queenslandicum</i>	1,5e
<i>C. scovillei</i>	21,5 ^a
<i>C. siamense</i>	7,56bdc
<i>C. theobromicola</i>	2,94de

¹ Virulence values, expressed in mm (lesion diameter).

² Mean values followed by the same letter in the column do not differ between Tukey's test ($p = 0.05$).

Supplementary Table S1. Primers used in this study.

Markers	Primers	Sequence	References
ApMAT	CgDL F6	AGTGGAGGTGCGGGACGTT	Rojas et al. (2010)
	CgMat1 F2	TGATGTATCCCGACTACCG	
GAPDH	GAP2044	TTCTACGGGAAAACCAGGGC	Vieira et al. (2017)
	GAP-1041	CTACACCGAGGACGATGTCG	
TUB	T1	AACATGCGTGAGATTGTAAGT	Donnell and Cigelnik (1997)
	T22	TCTGGATGTTGTTGGGAATCC	
APN2	ColdI-F3	GGGAGAAGCGAACATACCA	Rojas et al. (2010)
	CGDL- R1	GGGTGTTCCGCTTGGTATC	
GS	GS64	CCGGAGAATYCTTTWCACGA	Vieira et al. (2017)
	CFS967	CTTCAGGTAGACGTCAGAGTTT	
HIS3	CYLH3	AGGTCCACTGGTGGCAAG	Crous et al. (2004)
	CYLH3	AGCTGGATGTCCTTGGACTG	
CAL	CL2C	CTTCTGCATCATGACCTGGAC	O'Donnell et al. (2000)
	CL1C	GAATTCAAGGAGGCCTTCTC	
	CAL-22 8-F	GAGTTCAAGGAGGCCTTCTCCC	Carbone and Kohn (1999)
	CAL-73 7-R	CATCTTTCTGGCCATCATGG	
CHS-1	CHS-79F	TGGGGCAAGGATGCTTGGAAGAAG	Carbone and Kohn (1999)
	CHS-345R	TGGAAGAACCATCTGTGAGAGTTG	
GAP2/IGS	GAP/IGS- 2044	TTCTACGGGAAAACCAGGGC	Vieira et al. (2017)

Supplementary Table S2- Isolates of *Colletotrichum* used in this study, details of the collection number, and Genbank accession numbers.

Species	Strain no. ¹	Host	Origin	GenBank accession number ²								
				GAPDH	CAL	TUB2	GS	APn2	APMAT	GS-IGS	CHS-1	HIS3
<i>C. acerbum</i>	CBS 128530, ICMP 12921, PRJ 1199.3*	<i>Malus domestica</i>	N. zealand	JQ948790	-	JQ950110	-	-	-	-	JQ949120	JQ949450
<i>C. aciculare</i>	MFLU 13-0280	-	-	KT290254	-	-	-	-	-	-	KT290252	-
<i>C. acutatum</i>	CBS 112996, ATCC 56816, STE-U 5292*	<i>Carica papaya</i>	Australia	JQ948677	-	JQ005860	-	-	-	-	JQ005797	JQ005818
<i>C. acutatum</i>	CBS 112980, STE-U 164	<i>Pinus radiata</i>	South Africa	JQ948687	-	JQ950007	-	-	-	-	JQ949017	JQ949347
<i>C. acutatum</i>	CBS 127539, CPC 11738	<i>Aspalathus linearis</i>	Africa	JQ948708	-	JQ950028	-	-	-	-	JQ949038	JQ949368
<i>C. acutatum</i>	CBS 127542, CPC 13880	<i>Aspalathus linearis</i>	Africa	JQ948710	-	JQ950030	-	-	-	-	JQ949040	JQ949370
<i>C. aenigma</i>	ICMP 18608*	<i>Persea americana</i>	Israel	JX010044	JX009683	JX010389	JX010078	-	KM360143	-	-	-
<i>C. aenigma</i>	IMCP 18686	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Japan	JX009913	JX009684	JX010390	-	-	-	-	-	-
<i>C. aeshynomenes</i>	ICMP 17673*	<i>Aeshynomene virginica</i>	USA	JX009930	JX009721	JX010392	JX010420	-	KM360145	-	-	-
<i>C. alienum</i>	ICMP 12071*	<i>Malus domestica</i>	N. zealand	JX010028	JX009654	JX010411	JX010101	-	KM360144	-	-	-
<i>C. alienum</i>	ICMP 18621	<i>Persea americana</i>	N. zealand	JX009959	JX009657	JX010386	JX010075	-	-	-	-	-
<i>C. annellatum</i>	CBS 129826, CHI*	<i>Hevea indica</i>	Colombia	JQ005309	JQ005743	JQ005656	-	-	-	-	JQ005396	JQ005483
<i>C. aracearum</i>	CGMCC 3.14982, LC1033*	<i>Monstera deliciosa</i>	China	KX893585	-	KX893581	-	-	-	-	-	-
<i>C. aracearum</i>	CGMCC 3.14983, LC1041	<i>Philodendron selloum</i>	China	KX893586	-	KX893586	-	-	-	-	-	-
<i>C. asianum</i>	ICMP 18580*, CBS 130418	<i>Coffea arabica</i>	Thailand	JX010053	FJ917506	JX010406	JX010096	-	FR718814	-	-	-
<i>C. asianum</i>	IMI 313839, ICMP 18696	<i>Mangifera indica</i>	Australia	JX009915	JX009723	JX010384	JX010073	-	-	-	-	-
<i>C. australe</i>	CBS 116478, HKUCC 2616*	<i>Trachycarpus fortunei</i>	Africa	JQ948786	-	JQ950106	-	-	-	-	JQ949116	JQ949446
<i>C. australe</i>	CBS 131325, CPC 19820	<i>Hakea sp.</i>	Australia	JQ948787	-	JQ950107	-	-	-	-	JQ949117	JQ949447
<i>C. beeveri</i>	CBS 128527, ICMP 18594*	<i>Brachyglottis repanda</i>	N. zealand	JQ005258	JQ005692	JQ005605	-	-	-	-	JQ005345	JQ005432
<i>C. boninense</i>	CBS 123755, MAFF 305972*	<i>Crinum asiaticum var. sinicum</i>	Japan	JQ005240	JQ005674	JQ005588	-	-	-	-	JQ005327	JQ005414
<i>C. boninense</i>	CBS 128547, ICMP 10338	<i>Camellia sp.</i>	N. zealand	JQ005246	JQ005680	JQ005593	-	-	-	-	JQ005333	JQ005420
<i>C. brasiliense</i>	CBS 128501, ICMP 18607, PAS12*	<i>Passiflora edulis</i>	Brazil	JQ005322	JQ005756	JQ005669	-	-	-	-	JQ005409	JQ005496
<i>C. brassicicola</i>	CBS 101059, LYN 16331*	<i>Brassica oleracea var. gemmifera</i>	N. zealand	JQ005259	JQ005755	JQ005606	-	-	-	-	JQ005346	JQ005433
<i>C. brevisporum</i>	CBS 129957	<i>Anthurium sp.</i>	Thailand	MG600822	-	MG601029	-	-	-	-	-	MG600908
<i>C. brevisporum</i>	CBS 129958	<i>Anthurium sp.</i>	Thailand	MG600823	-	MG601030	-	-	-	-	-	MG600909
<i>C. brevisporum</i>	CBS 512.75	<i>Carica papaya</i>	Thailand	MG600821	-	MG601028	-	-	-	-	-	MG600907
<i>C. brisbanense</i>	CBS 292.67, DPI 11711*	<i>Capsicum annuum</i>	Australia	JQ948621	-	JQ949942	-	-	-	-	JQ948952	JQ949282

<i>C. cairnsense</i>	BRIP 63642*	<i>Capsicum annuum</i>	Australia	KU923704	-	KU923688	-	-	-	-	-	KU923710	-
<i>C. cacao</i>	119297*	<i>Theobroma cacao</i>	Costa Rica	MG600832	-	MG601039	-	-	-	-	-	MG600878	MG600916
<i>C. chrysanthemi</i>	CBS 126518, PD 84/520	<i>Carthamus sp.</i>	NED	JQ948601	-	JQ949922	-	-	-	-	-	JQ948932	JQ949262
<i>C. chrysanthemi</i>	CBS 126519, PD 85/694	<i>Chrysanthemum coronarium</i>	NED	JQ948602	-	JQ949923	-	-	-	-	-	JQ948933	JQ949263
<i>C. chrysophilum</i>	CMM 4268*, URM 7362	<i>Musa sp.</i>	Brazil	KX094183	KX094063	KX094285	KX094204	KX094018	KX094325	-	-	-	-
<i>C. chrysophilum</i>	CMM 4292	<i>Musa sp.</i>	Brazil	KX094182	KX094062	KX094284	KX094203	KX094015	KX094324	-	-	-	-
<i>C. chrysophilum</i>	8395	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	KX094176	KX094056	GU994473	KX094209	GU994415	GU994444	-	-	-	-
<i>C. chrysophilum</i>	Coll919	<i>Terpsichore taxifolia</i>	Puerto Rico	KX094177	KX094057	KX094288	KX094207	JX145265	JX145317	-	-	-	-
<i>C. chrysophilum</i>	E183	<i>Genipa americana</i>	Panama	KX094178	KX094058	GU994472	KX094208	GU994414	GU994443	-	-	-	-
<i>C. chrysophilum</i>	1200	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. chrysophilum</i>	DCM13	<i>Carica papaya</i>	Brazi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. citri</i>	CBS 134233*	<i>Citrus aurantifolia</i>	China	KC293741	-	KC293661	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. cliviae</i>	CSSK4	<i>Clivia miniata</i>	China	GQ856756	GQ849464	GQ849440	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. cliviae</i>	CSSS1	<i>Clivia miniata</i>	China	GU085868	GU085864	GU085869	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. cliviae</i>	CBS 125375*	<i>Clivia miniata</i>	China	JX546611	-	JX519249	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. colombiense</i>	CBS 129817, G1	<i>Passiflora edulis</i>	Colombia	JQ005260	JQ005695	JQ005607	-	-	-	-	-	JQ005347	JQ005434
<i>C. colombiense</i>	CBS 129818, G2*	<i>Passiflora edulis</i>	Colombia	JQ005261	JQ005693	JQ005608	-	-	-	-	-	JQ005348	JQ005435
<i>C. conoides</i>	CAUG17*	<i>Capsicum annuum</i>	China	KP890162	KP890150	KP890174	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. conoides</i>	CAUG33	<i>Capsicum annuum</i>	China	KP890163	KP890151	KP890175	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. constrictum</i>	CBS 128503, ICMP 12936	<i>Solanum betaceum</i>	N. zealand	JQ005324	JQ005758	JQ005671	-	-	-	-	-	JQ005411	JQ005498
<i>C. constrictum</i>	CBS 128504, ICMP 12941*	<i>Citrus limon, fruit</i>	N. zealand	JQ005325	JQ005694	JQ005672	-	-	-	-	-	JQ005412	JQ005499
<i>C. corchorum-capsularis</i>	FAFU 03	-	-	KT439361	KT439354	KT439341	KT439368	-	-	-	-	-	-
<i>C. cosmi</i>	CBS 853.73, PD 73/856*	<i>Cosmos sp.</i>	NED	JQ948604	-	JQ949925	-	-	-	-	-	JQ948935	JQ949265
<i>C. costaricense</i>	CBS 330.75*	<i>Coffea arabica</i>	C. Rica	JQ948510	-	JQ949831	-	-	-	-	-	JQ948841	JQ949171
<i>C. costaricense</i>	CBS 211.78, IMI 309622	<i>Coffea sp.</i>	C. Rica	JQ948511	-	JQ949832	-	-	-	-	-	JQ948842	JQ949172
<i>C. curcumae</i>	IMI 288937*	-	-	GU228285	-	GU228187	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. cuscutae</i>	IMI 304802, CPC 18873*	<i>Cuscuta sp.</i>	Dominica	JQ948525	-	JQ949846	-	-	-	-	-	JQ948856	JQ949186
<i>C. cymbidiicola</i>	IMI 347923*	<i>Cymbidium sp.,</i>	Australia	JQ005253	JQ005758	JQ005602	-	-	-	-	-	JQ005340	JQ005427
<i>C. cymbidiicola</i>	CBS 123757, MAFF 306100	<i>Cymbidium sp.,</i>	Japan	JQ005255	JQ005689	JQ005602	-	-	-	-	-	JQ005342	JQ005429
<i>C. dacrycarpi</i>	CBS 130241, ICMP 19107*	<i>Dacrycarpus dacrydioides</i>	N. zealand	JQ005323	JQ005687	JQ005670	-	-	-	-	-	JQ005410	JQ005497

<i>C. dracaenophilum</i>	CBS 118199*	<i>Buxus sp</i>	China	JX546707		JX519247	-	-	-	-	-	-
<i>C. endophytica</i>	CAUG28	<i>Capsicum annuum</i>	China	KP145413	KP145357	KP145469	-	-	-	-	-	-
<i>C. endophytica</i>	LC0324*	<i>Pennisetu purpureum</i>	Thailand	KC832854	KC810018		-	-	-	-	-	-
<i>C. fiorinia</i>	CBS 125396, GJS 08-140A	<i>Malus domestica</i>	USA	JQ948629	-	JQ949950	-	-	-	-	JQ948960	JQ949290
<i>C. fiorinia</i>	CBS 235.49	<i>Malus sp.</i>	USA	JQ948655	-	JQ949976	-	-	-	-	JQ948986	JQ949316
<i>C. fragariae</i>	CBS 142.31*	<i>Fragari vesca</i>	USA	JN937006	JX009592	JX010373	JX010064	-	JQ807844	-	-	-
<i>C. fragariae</i>	CMM 4242	<i>Musa sp.</i>	Brazil	KX094173	KX094068	KX094278	KX094197	KX094005	KX094320	-	-	-
<i>C. fragariae</i>	ICMP 17099	<i>Fragaria × ananassa</i>	USA	-	JX009588	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. fruticola</i>	ICMP 18581*, CBS 130416	<i>Coffea arabica</i>	Thailand	JX010033	FJ917508	JX010405	JX010095	-	JQ807838	-	-	-
<i>C. fruticola</i>	CBS 125397, ICMP 18646	<i>Tetragastris panamensis</i>	Panama	JX010032	JX009674	JX010409	JX010099	-	JQ807839	-	-	-
<i>C. fruticola</i>	CMM3238	<i>A. occidentale</i>	Brazil	MF110851	MF110825	MF111055	MF110993	MF110706	MF110633	MF110912	-	-
<i>C. fruticola</i>	PS15	<i>Carica papaya</i>	Brazil									
<i>C. fruticola</i>	PS5	<i>Carica papaya</i>	Brazil									
<i>C. fusiforme</i>	MFLUCC 12-0437T	-	-	KT290255	-	KT290256	-	-	-	-	KT290253	-
<i>C. gloeosporioides</i>	IMI 356878*, ICMP 17821, CBS 112999	<i>Citrus sinensis</i>	Italy	JX010056	JX009731	JX010445	JX010085	GU994416	JQ807843	-	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	CMM3279	<i>A. occidentale</i>	Brazil	MF110864	MF110827	MF111056	MF110995	MF110709	-	MF110975	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	LC3382, LF604	<i>Ca. sinensis</i>	China	KJ954877	KJ954728	KJ955323	KJ955026	-	KJ954584	-	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	JN1	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	JN2	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	JB16	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	JB6	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. godetiae</i>	CBS 133.44*	<i>Clarkia hybrida</i> ,	Denmark	JQ948733	-	JQ950053	-	-	-	-	JQ949063	JQ949393
<i>C. godetiae</i>	CBS 131331	<i>Juglans regia</i>	Austria	JQ948735	-	JQ950055	-	-	-	-	JQ949065	JQ949395
<i>C. grossum</i>	CAUG7*	<i>Capsicum sp.</i>	China	KP890159	KP890147	KP890171	-	-	-	-	-	-
<i>C. guajavae</i>	IMI 350839, CPC 18893*	<i>Psidium guajava</i>	India	JQ948600	-	JQ949921	-	-	-	-	JQ948931	JQ949261
<i>C. hebeiense</i>	JZB330028*	<i>Vitis vinifera</i>	China	KF377495	-	KF288975	-	-	-	-	-	-
<i>C. hebeiense</i>	JZB330024	<i>Vitis vinifera</i>	China	kf377505	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. hippeastri</i>	CBS 125376, CSSG1*	<i>Hippeastrum vittatum</i>	China	JQ005318	JQ005673	JQ005665	-	-	--	-	JQ005405	JQ005492
<i>C. hippeastri</i>	CBS 241.78, IMI 304052	<i>Hippeastrum sp.</i>	NED	JQ005319	JQ005753	JQ005666	-	-	-	-	JQ005406	JQ005493
<i>C. horii</i>	NBRC 7478*, ICMP 10492	<i>Diospyros kaki</i>	Japan	GQ329681	JX009604	JX010450	JX010137	-	JQ807840	-	-	-

<i>C. hystricis</i>	CBS 142412, CPC 28154	<i>Citrus hystrix</i>	Italy	KY856275	KY856103	KY856533	--	-	-	-	-	-
<i>C. hystricis</i>	CBS 142411, CPC 28153	<i>Citrus hystrix</i>	Italy	KY856274	KY856102	KY856532	-	-	-	-	-	-
<i>C. indonesiense</i>	CBS 127551, CPC 14986*	<i>Eucalyptus sp.</i>	Indonesia	JQ948618	-	JQ949939	-	-	-	-	JQ948949	JQ949279
<i>C. johnstonii</i>	CBS 128532, ICMP 12926, PRJ 1139.3*	<i>Solanum lycopersicum</i>	N. zealand	JQ948775	-	JQ950095	-	-	-	-	JQ949105	JQ949435
<i>C. karstii</i>	CBS 128500, ICMP 18585*	<i>Annona cherimola</i>	N. zealand	JQ005289	JQ005723	JQ005636	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	CBS 128550, ICMP 17896	<i>Annona cherimola</i>	Mexico	JQ005306	JQ005740	JQ005653	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	CBS 106.91	<i>Carica papaya</i>	Brazil	JQ005282	JQ005716	JQ005629	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	CBS 127597	<i>Diospyros australis</i>	Australia	JQ005291	JQ005725	JQ005638	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	CBS 861.72	<i>Bombax aquaticum</i>	Brazil	JQ005271	JQ005705	JQ005618	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	CBS 128545, ICMP 18587	<i>Capsicum annum</i>	New Zealand	JQ005294	JQ005728	JQ005641	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	CBS 128524, ICMP 18588	<i>Citrullus lanatus,</i>	New Zealand	JQ005282	JQ005716	JQ005629	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	CBS 129927	<i>Anthurium sp</i>	Thailand	JQ005293	JQ005727	JQ005640	-	-	-	-	JQ005380	JQ005467
<i>C. karstii</i>	JB13	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	JB4	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	JB7	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	JB9	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	JB17	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	JB1	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	C8	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	C07	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	S5	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. karstii</i>	TX10	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. kinghormii</i>	CBS 198.35*	<i>Phormium sp.</i>	UK	JQ948785	-	JQ950105	-	-	-	-	JQ949115	JQ949445
<i>C. laticiphilum</i>	CBS 112989, IMI 383015, STE-U 5303*	<i>Hevea brasiliensis</i>	India	JQ948619	-	JQ949940	-	-	-	-	JQ948950	JQ949280
<i>C. laticiphilum</i>	CBS 129827, CH2	<i>Hevea brasiliensis</i>	Colombia	JQ948620	-	JQ949941	-	-	-	-	JQ948951	JQ949281
<i>C. liaoningense</i>	CAUOS2*	<i>Capsicum sp</i>	China	KP890135	KP890119	KP890111	-	-	-	-	KP890127	-
<i>C. liaoningense</i>	CAUOS3	<i>Capsicum sp</i>	China	KP890136	KP890120	KP890112	-	-	-	-	KP890128	-
<i>C. liaoningense</i>	CAUOS4	<i>Capsicum sp</i>	China	KP890137	KP890121	KP890113	-	-	-	-	KP890129	-
<i>C. limeticicola</i>	CBS 114.14*	<i>Citrus aurantifolia</i>	USA	JQ948523	-	JQ949844	-	-	-	-	JQ948854	JQ949184
<i>C. lobatum</i>	IMI 79736*	<i>Piper catalpaefolium</i>	Trinidad and tobago	MG600828	-	MG601035	-	-	-	-	-	MG600912

<i>C. lupini</i>	CBS 109225, BBA 70884*	<i>Lupinus albus</i>	Ukraine	JQ948485	--	JQ949806	-	-	-	-	JQ948816	JQ949146
<i>C. lupini</i>	CBS 129944, CMG12, RB042	<i>Cinnamomum verum</i>	Portugal	JQ948508	-	JQ949829	-	-	-	-	JQ948839	JQ949169
<i>C. magnum</i>	IMI 391662	<i>Citrullus lanatus</i>	USA	MG600831	-	MG601038	-	-	-	-	-	MG600915
<i>C. magnum</i>	CBS 575.97	<i>Citrullus lanatus</i>	USA	MG600830	-	MG600837	-	-	-	-	-	MG600914
<i>C. magnum</i>	CBS 519.97*	<i>Citrullus lanatus</i>	USA	MG600829	-	MG601036	-	-	-	-	-	MG600913
<i>C. melonis</i>	CBS 159.84*	<i>Cucumis melo</i>	Brazil	JQ948524	-	JQ949845	-	-	-	-	JQ948855	JQ949185
<i>C. merremiae</i>	CBS 124955*	<i>Merremia umbellata</i>	Panama	MG600825	-	MG601032	-	-	-	-	-	MG600910
<i>C. musae</i>	ICMP 19119*, CBS 116870	<i>Musa sp.</i>	USA	JX010050	JX009742	HQ596280	JX010103	-	KC888926	-	-	-
<i>C. novae-zelandiae</i>	CBS 128505, ICMP 12944*	<i>Capsicum annum</i>	N. zealand	JQ005315	JQ005740	JQ005662	-	-	-	-	JQ005402	JQ005489
<i>C. novae-zelandiae</i>	CBS 130240, ICMP 12064	<i>Citrus sp.</i>	N. zealand	JQ005316	JQ005749	JQ005663	-	-	--	-	JQ005403	JQ005490
<i>C. nupharicola</i>	CBS 469.96, ICMP 17938	<i>Nuphar lutea</i>	USA	JX009936	JX009661	JX010397	JX010087	-	-	-	-	-
<i>C. nupharicola</i>	CBS 470.96*, ICMP 18187	<i>Nuphar lutea</i>	USA	JX009972	JX009663	JX010398	JX010088	-	JX145319	-	-	-
<i>C. nymphaeae</i>	CBS 112992, STE-U 4452	<i>Protea magnifica</i>	Africa	JQ948537	-	JQ949858	-	-	-	-	JQ948885	JQ949215
<i>C. nymphaeae</i>	CBS 100064	<i>Anemone sp.</i>	NED	JQ948554	-	JQ949875	-	-	-	-	JQ948885	JQ949215
<i>C. okinawense</i>	MAFF 240517	<i>Carica papaya</i>	Japan	MG600827	-	MG601034	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	DCM12	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	CMM1685	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	DCM2	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	CMM1751	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	CMM1821	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	C32	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	CMM1195	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	TX14	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	CMM1188	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	529	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	C26	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. okinawense</i>	JB8	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. oncidi</i>	CBS 129828*	<i>Oncidium sp.</i>	Germany	JQ005256	JQ005690	JQ005603	-	-	-	-	JQ005343	JQ005430
<i>C. oncidi</i>	CBS 130242	<i>Oncidium sp.</i>	Germany	JQ005257	JQ005691	JQ005604	-	-	-	-	JQ005344	JQ005431
<i>C. paranaense</i>	CBS 134729 *	<i>Malus domestica</i>	Brazil	KC205026	-	KC205060	-	-	-	-	KC205043	-

<i>C. parsoniae</i>	CBS 128525, ICMP 18590*	<i>Parsonia capsularis</i>	N. zealand	JQ005320	JQ005690	JQ005604	-	-	-	-	JQ005407	JQ005494
<i>C. paxtonii</i>	IMI 165753, CPC 18868*	<i>Musa sp.</i>	S. Lucia	JQ948615	-	JQ949936	-	-	-	-	JQ948946	JQ949276
<i>C. paxtonii</i>	CBS 502.97, LARS 58	<i>Musa nana</i>	Indies	JQ948616	-	JQ949937	-	-	--	-	JQ948947	JQ949277
<i>C. perseae sp. nov.</i>	GA100T, CBS 141365	-	-	KX620242	-	-	-	-	--	-	-	-
<i>C. perseae sp. nov.</i>	GA177	-	-	KX620245	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. perseae sp. nov.</i>	GA272, CBS 141366	-	-	KX620255	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. petchii</i>	CBS 378.94*	<i>Dracaena marginata</i>	Italy	JQ005310	JQ005754	JQ005657	-	-	-	-	JQ005397	JQ005484
<i>C. phormii</i>	CBS 118194, AR 3546*	<i>Phormium sp.</i>	Germany	JQ948777	-	JQ950097	-	-	-	-	JQ949107	JQ949437
<i>C. phormii</i>	CBS 102054	<i>Phormium sp</i>	N. zealand	JQ948779	-	JQ950099	-	-	-	-	JQ949109	JQ949439
<i>C. phyllanthi</i>	CBS 175.67, MACS 271*	<i>Phyllanthus acidus</i>	India	JQ005308	JQ005745	JQ005655	-	-	-	-	JQ005395	JQ005482
<i>C. pyricola</i>	CBS 128531, ICMP 12924, PRJ 977.1*	<i>Pyrus communis,</i>	N. zealand	JQ948776	-	JQ950096	-	-	-	-	JQ949106	JQ949436
<i>C. plurivorum</i>	CBS 125474*	<i>Coffea sp.</i>	Vietnam	MG600781	-	MG600985	-	-	-	-	-	MG600887
<i>C. plurivorum</i>	CBS 132443	<i>Gossypium sp.</i>	Brazil	MG600782	-	MG600986	-	-	-	-	-	MG600888
<i>C. plurivorum</i>	CBS 132444	<i>Gossypium sp.</i>	Brazil	MG600783	-	MG600987	-	-	-	-	-	MG600889
<i>C. plurivorum</i>	CBS90369	<i>Phaseolus lunatus</i>	Benin	MG600784	-	MG600988	-	-	-	-	-	MG600890
<i>C. plurivorum</i>	CBS125473	<i>Coffea sp.</i>	Vietnam	MG600780	-	MG600984	-	-	-	-	-	MG600886
<i>C. plurivorum</i>	PS14	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	--	-	-	-	-	-	-
<i>C. plurivorum</i>	C20	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. plurivorum</i>	CMM1716	<i>Carica papaya</i>	Brasil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. queenslandicum</i>	ICMP 1778*	<i>Carica papaya</i>	Australia	JX009934	JX009691	JX010414	JX010104	-	KC888928	-	-	-
<i>C. queenslandicum</i>	ICMP 18705	<i>Coffea sp.</i>	Fiji	JX010036	JX009694	JX010412	JX010102	-	-	--	-	-
<i>C. queenslandicum</i>	CMM3233	<i>A. occidentale</i>	Brazil	MF110849	MF110828	MF111058	MF110996	MF110711	MF110639	MF110918	-	-
<i>C. queenslandicum</i>	CMM3241	<i>A. occidentale</i>	Brazil	MF110848	MF110832	MF111059	MF111000	MF110714	MF110642	MF110915	-	-
<i>C. queenslandicum</i>	CMM659	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	--	-	-
<i>C. rhombiforme</i>	CBS 129953, PT250, RB011*	<i>Olea europaea</i>	Portugal	JQ948788	-	JQ950108	-	-	-	-	JQ949118	JQ949448
<i>C. rhombiforme</i>	CBS 131322, DAOM 233253, C10, MS1L34	<i>Vaccinium macrocarpum</i>	USA	JQ948789	-	JQ950109	-	--	-	-	JQ949119	JQ949449
<i>C. salicis</i>	CBS 607.94*	<i>Salix sp.</i>	NED	JQ948791	-	JQ950111	-	-	-	-	JQ949121	JQ949451
<i>C. salicis</i>	CBS 180.97, PD 96003647	<i>Populus canadensis</i>	NED	JQ948795	-	JQ950115	-	-	-	-	JQ949125	JQ949455
<i>C. salsolae</i>	ICMP 19051*	<i>Salsola tragus</i>	Hungary	JX009916	JX009696	JX010403	JX010093	-	KC888925	-	-	-
<i>C. scovillei</i>	CBS 126529, PD 94/921-3, BBA 70349*	<i>Capsicum sp.</i>	Indonesia	JQ948597	-	JQ949918	-	-	-	-	JQ948928	JQ949258

<i>C. scovillei</i>	CBS 126530, PD 94/921-4	<i>Capsicum sp.</i>	Indonesia	JQ948598	-	JQ949919	-	-	-	-	JQ948929	JQ949259
<i>C. scovillei</i>	CBS 120708, HKUCC 10893, Mj6	<i>Capsicum annuum</i>	Thailand	JQ948599	-	JQ949920	-	-	-	-	JQ948930	JQ949260
<i>C. scovillei</i>	PS7	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. siamense</i>	ICMP 18568*, CBS 130417	<i>Coffea arabica</i>	Thailand	JX009924	FJ917505	JX010404	JX010094	-	JQ899289	-	-	-
<i>C. siamense</i>	CMM 4248	<i>Musa sp.</i>	Brazil	KX094154	KX094037	KX094300	KX094229	KX093992	KX094314	KX094136	-	-
<i>C. siamense</i>	CMM4247	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	KX094155	KX094261	KX094038	KX094196	KX094009	KX094301	-	-	-
<i>C. siamense</i>	CMM3226	<i>Musa sp.</i>	Brazil	MF110892	MF110771	MF111082	MF111004	MF110729	MF110686	MF110950	-	-
<i>C. siamense</i>	CMM3206	<i>Musa sp.</i>	Brazil	MF110870	MF110765	MF111074	MF111028	MF110733	MF110663	MF110944	-	-
<i>C. siamense</i>	S8	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. siamense</i>	PS6	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. siamense</i>	S28	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. siamense</i>	DCM22	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. siamense</i>	DCM21	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. siamense</i>	DCM20	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. simmondsii</i>	CBS 122122, BRIP 28519*	<i>Carica papaya</i>	Australia	JQ948606	-	JQ949927	-	-	-	-	JQ948937	JQ949267
<i>C. sloanei</i>	IMI 364297, CPC 18929*	<i>Theobroma cacao</i>	Malaysia	JQ948617	-	JQ949938	-	-	-	-	JQ948948	JQ949278
<i>C. tamarilloi</i>	CBS 129814, T.A.6*	<i>Solanum betaceum</i>	Colombia	JQ948514	-	JQ949835	-	-	-	-	JQ948845	JQ949175
<i>C. tamarilloi</i>	CBS 129811, T.A.3	<i>Solanum betaceum</i>	Colombia	JQ948515	-	JQ949836	-	-	-	-	JQ948846	JQ949176
<i>C. theobromicola</i>	CBS 124945*, ICMP 18649	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	JX010006	JX009591	JX010447	JX010139	GU994419	KC790726	-	-	-
<i>C. theobromicola</i>	ICMP 18566	<i>Olea europaea</i>	Australia	JX009953	JX009953	JX010376	JX010071	-	-	-	-	-
<i>C. theobromicola</i>	GJS0848	<i>T. cacao</i>	Panama	-	-	GU994475	-	--	GU994417	GU994446	-	-
<i>C. theobromicola</i>	CBS 142.31*	<i>Fragari vesca</i>	USA	JN937006	JX009592	JX010373	JX010064	-	JQ807844	-	-	-
<i>C. theobromicola</i>	CMM3214	<i>A. occidentale</i>	Brazil	MF110847	MF110815	MF111049	MF111041	MF110699	MF110628	-	-	-
<i>C. theobromicola</i>	CMM3220	<i>A. occidentale</i>	Brazil	MF110856	MF110816	-	MF110984	MF110700	MF110629	-	-	-
<i>C. theobromicola</i>	PS10	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. theobromicola</i>	S9	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. theobromicola</i>	TX9	<i>Carica papaya</i>	Brazil	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. torulosum</i>	CBS128544, ICMP 18586*	<i>Solanum melogena</i>	N. zealand	JQ005251	JQ005742	JQ005598	-	-	-	-	JQ005338	JQ005425
<i>C. torulosum</i>	CBS 102667	<i>Passiflora edulis</i>	N. zealand	JQ005252	JQ005686	JQ005599	-	-	-	-	JQ005339	JQ005426

<i>C. tropicale</i>	MAFF 239933	<i>Litchi chinensis</i>	Japan	JX010020	JX009722	JX010396	JX010086	-	-	-	-	-
<i>C. tropicale</i>	CBS 124949*, ICMP 18653	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	JX010007	JX009719	JX010407	JX010097	GU994396	KC790728	-	-	-
<i>C. tropicale</i>	CMM 3767	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	KC702960	KC992378	KC992345	-	-	KJ155464	-	-	-
<i>C. tropicale</i>	CMM 3780	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	KC702961	KC992374	KC992343	-	-	KJ155467	-	-	-

* The hyphen represents strings that are not coded or awaiting deposit in Genbank.

CAPÍTULO III

**Adaptabilidade comparativa de espécies de *Coletotrichum* spp.
associadas a antracnose do mamão no Brasil.**

Adaptabilidade comparativa de espécies de *Colletotrichum* spp. associadas a antracnose do mamão no Brasil

Angélica dos Santos Nunes¹. Josiene Silva Veloso¹. Willie Anderson dos Santos Vieira¹. Anthony Carlos da Silva¹. Ricardo Brainer Martins². Vinson Patrick Doyle³. Marcos Paz Saraiva Câmara¹

4. Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 52171-900, PE, Brazil.
5. Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Alagoas, Arapiraca, 57309-005, AL, Brazil.
3. Department of Plant Pathology and Crop Physiology, Louisiana State University AgCenter, Baton Rouge, Louisiana, United States of America.

Author for correspondence: Marcos Paz Saraiva Câmara, email: marcos.camara@ufrpe.br

Resumo

A antracnose do mamão (*Papaya carica*) causada por *Colletotrichum* spp. é uma doença importante em todo mundo pois afeta o rendimento e a produção dos frutos na pós-colheita. Recentemente foram reportadas pela primeira vez as espécies *C. theobromicola* e *C. scovillei* causando antracnose do mamão no mundo. No Brasil, a cultura sofre com a diversidade de espécies de *Colletotrichum* encontradas associadas ao fruto. Existem relatos de pelo menos onze espécies do gênero identificadas causando antracnose na cultura. A alta incidência do fungo, principalmente nas principais regiões produtoras do País, comprometem a exportação do produto, inviabiliza os frutos para consumo e deprecia seu valor comercial. Entretanto, apesar de se ter conhecimento da etiologia dessas espécies, há uma grande diversidade fenotípica dentro do gênero *Colletotrichum*. Ainda, pouco se sabe sobre a influência de fatores ambientais como temperatura, gama de hospedeiros e eficiência de fungicidas recomendados para o controle da doença. Esses fatores são fundamentais para entender melhor, não só sobre a etiologia, mas também conhecer a epidemiologia de *Colletotrichum* spp. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os aspectos epidemiológicos de *C. okinawense*, *C. gloeosporioides*, *C. karstii*

C. plurivorum, *C. chrysophillum*, *C. siamense*, *C. theobromicola*, *C. fructicola*, *C. queenslandicum* e *C. scovillei* relatadas causando antracnose em frutos de mamão no Brasil. Foram avaliados a patogenicidade, virulência, a influência da temperatura sobre o crescimento das colônias e na produção dos conídios, gama de hospedeiros e o efeito de tiofanato-metilico das 10 espécies. Como resultado foram identificadas as espécies mais virulentas em diferentes hospedeiros, sendo *C. karstii* e *C. okinawense* as menos virulentas em banana, manga e goiaba. Nenhuma das espécies causou doença em frutos de maracujá. Foram obtidas a temperatura ótima tanto para o crescimento micelial quanto para produção de conídios de cada espécie avaliada. Além disso, o tiofanato metílico, frequentemente aplicado em campo, está sendo eficaz para controle de todas as espécies encontradas, demonstrando uma alternativa viável para controle da antracnose do mamão.

Palavras chave: Epidemiologia comparativa, virulência, *Colletotrichum* spp.

Abstract

Papaya (*Papaya carica*) anthracnose caused by *Colletotrichum* spp. It is a major disease worldwide as it affects postharvest yield and fruit yield. Recently, it was first reported how *C. theobromicola* and *C. scovillei* species cause papaya anthracnose in the world. In Brazil, one crop suffers from several *Colletotrichum* species associated with the fruit. There are reports of less than one species of identified genus caused by anthracnose in culture. The high incidence of fungi, especially in the main product regions of the country, compromises the exportation of the product, makes the fruits unfit for consumption and depreciates its commercial value. However, despite the knowledge of the etiology of these species, there is a great phenotypic diversity within the genus *Colletotrichum*. Nevertheless, little is known about environmental factors such as temperature, host range and fungicide efficiency recommended for disease control. These factors are fundamental for the best understanding not only for the etiology but also for the epidemiology of *Colletotrichum* spp. Thus, the aim of the present study was to evaluate the epidemiological aspects of *C. okinawense*, *C. gloeosporioides*, *C. karstii*, *C. plurivorum*, *C. chrysophillum*, *C. siamense*, *C. theobromicola*, *C. fructicola*, *C. queenslandicum* and *C. scovillei* reported cause anthracnose in papaya fruits in Brazil. Pathogenicity, virulence, temperature influence on colony growth and conidial production, host range and effect of thiophanate-methyl of the 10 species were reduced. As a result, they were identified as more virulent species in different hosts, with *C.*

karstii and *C. okinawense* being less virulent in banana, manga and guava. None of the species caused disease in passion fruit. The ideal temperature was selected for both mycelial growth and conidia production of each species evaluated. In addition, methyl thiophanate, often applied in the field, is effective for controlling all exhibited species, demonstrating a viable alternative for controlling papaya anthracnosis.

Key words: Comparative epidemiology, virulence, *Colletotrichum* spp.

Introdução

O mamão (*Carica papaya* L.) tem como centro de origem o Caribe, é cultivado em regiões tropicais e subtropicais do mundo (Serrano and Cattaneo 2010). O Brasil é o segundo maior produtor mundial de frutos de mamão com uma produção de aproximadamente 1,5 milhão de toneladas/ano (Secretaria de Comércio Exterior, 2019). A produção e exportação dos frutos são comprometidas por diversos fatores limitantes, dentre eles se destacam as doenças fúngicas, responsáveis por grandes prejuízos na cadeia produtiva (Paull et al. 1997).

Antracnose é a principal doença em mamoeiro, sendo causada por espécies do gênero *Colletotrichum* que inviabiliza os frutos para consumo e deprecia seu valor comercial (Ribeiro et al. 2016). Muitas espécies estão associadas aos frutos na pós-colheita. O mamão é um dos hospedeiros que mais sofre com os prejuízos causados pelo fungo. Recentemente 10 espécies de *Colletotrichum* foram reportadas causando antracnose em mamão no Brasil: *C. fruticola*, *C. siamense*, *C. gloeosporioides*, *C. queenslandicum*, *C. okinawense*, *C. chrysophilum*, *C. theobromicola*, *C. scovillei*, *C. plurivorum* e *C. karstii* (Nunes, 2019).

O desenvolvimento de *Colletotrichum* spp. está relacionada diretamente com as condições de ambiente (Basulto et al. 2011). A temperatura e a umidade são os principais fatores envolvidos no processo. A primeira, afeta a germinação e o crescimento dos fungos, a segunda é indispensável para a germinação dos conídios e penetração do tubo germinativo no hospedeiro (Suzuki et al. 2007). O conhecimento de condições favoráveis aos fitopatógenos na interação patógeno-hospedeiro é indispensável para estabelecer estratégias de medidas de manejo (Agrios, 2005).

Espécies do gênero *Colletotrichum* são relatadas causando doenças em diversos hospedeiros, assim como uma única espécie pode ocorrer em múltiplos hospedeiros como: *C. acutatum*, *C. fragariae* e *C. gloeosporioides*, responsáveis pela podridão de antracnose em abacate, maçã, pêssego e morango. (Photita et al. 2005). Relatos sobre doenças causadas por

Colletotrichum spp. em diversos hospedeiros têm demonstrado frequentemente que o fungo apresenta ampla variabilidade morfológica, fisiológica e patogênica (Serra et al. 2011). O gênero é notoriamente variável em relação a determinadas características, destacando-se a patogenicidade, demonstrada em diversos patossistemas. A ocorrência de populações com comportamento patogênico diferenciado pode determinar variações na expressão da doença, interferindo na adoção de estratégias de controle. Inoculações cruzadas em diversos hospedeiros são usadas como forma de caracterização patogênica visando demonstrar a especificidade ou a quantidade de hospedeiros dos isolados (Peres et al. 2005).

O controle efetivo da doença em mamoeiro, inclui um conjunto de práticas químicas, culturais e biológicas (Moe and Sang-Keun, 2018). Para o controle químico, vários fungicidas, são utilizados no campo, principalmente na classe dos benzimidazóis. No entanto, é cada vez mais comum encontrar isolados que sejam menos sensíveis ou até mesmo insensíveis a esses fungicidas (Lopes et al. 2015). A diminuição da eficiência dos produtos utilizados comercialmente no controle da antracnose é um fator a ser considerado, uma vez que esse fato é associado ao surgimento de microorganismos com níveis elevados de tolerância a esses produtos (Phoulivong 2011).

A identificação de espécies de *Colletotrichum*, estão relacionadas à grande diversidade fenotípica dos isolados, influência de fatores ambientais, eficiência das doses de fungicidas recomenda para o controle da doença e a falta de padronização de condições culturais empregadas nos diferentes estudos (Lakshmi et al. 2011; Moe and Sang-Keun, 2018). Sendo assim, este estudo avaliou a virulência de *C. okinawense*, *C. gloeosporioides*, *C. karstii*, *C. plurivorum*, *C. chrysophilum*, *C. siamense*, *C. theobromicola*, *C. fructicola*, *C. queenslandicum* e *C. scovillei* recentemente identificadas nas principais regiões produtoras do Brasil. Além disso, avaliou-se a gama de hospedeiros, influência da temperatura sobre o crescimento micelial e produção de conídios e a eficiência de tiofanato metílico no controle da antracnose do mamão.

Material e Métodos

Isolados de *Colletotrichum* spp.

Isolados das espécies de *Colletotrichum* (*C. fructicola*, *C. theobromicola*, *C. gloeosporioides*, *C. plurivorum*, *C. okinawense*, *C. chrysophilum*, *C. queenslandicum*, *C. scovillei*, *C. siamense* e *C. karstii*) utilizados foram obtidos da coleção de Fungos Fitopatogênicos do

laboratório de micologia (LM) na Universidade Federal Rural de Pernambuco (Recife, Pernambuco, Brasil). Todos foram isolados a partir frutos de mamoeiro com sintoma de antracnose e identificados através de análise filogenética multilocus, descrita por Nunes (2019).

Condição de cultivo e produção de inóculo/propágulo

Cada isolado foi cultivado em batata dextrose ágar (BDA), mantido a 28°C, sob fotoperíodo de 12h. O inóculo/propágulo foi constituído por disco de substrato de 3 mm diâmetro, contendo estruturas do patógeno, obtidos a partir da margem de colônia com 7 dias de crescimento. Esse procedimento foi realizado em todos os experimentos. Para o ensaio de temperatura para produção de conídios, foi feita uma suspensão de inóculo com os isolados de *Colletotrichum*. Uma alíquota de 20µl da suspensão foi obtida na concentração de 10⁶ conídios por mL.

Efeito da temperatura no crescimento da colônia e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp.

A temperatura ótima de desenvolvimento *in vitro* foi estimada por meio do crescimento micelial e da germinação de conídios.

Para o crescimento micelial, disco de substrato contendo estruturas do fungo foi depositado, com a face com as estruturas voltada para baixo, em placa de Petri contendo BDA. As placas foram mantidas em câmara incubadoras tipo B.O.D, sem presença de luz, em temperaturas de 10°; 15°; 20°; 25°; 30° e 35° C durante sete dias. As avaliações iniciaram 48h após o início da incubação e consistiu na mensuração diária do raio das colônias, em milímetros, o (Doyle et al. 2013). Com os dados obtidos foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), conforme a fórmula descrita: $IVCM = \Sigma (D - Da) / N$. Sendo: D= diâmetro médio atual da colônia; Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior; N= número de dias após a inoculação. Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições, onde uma placa = a uma repetição. A variável dependente foi o IVCM.

Para a germinação de conídios, 20 mL de suspensão (com 1 x 10⁶ conídios mL⁻¹) foram depositados em placa de Petri contendo 4 lamínulas distribuídas de forma equidistante ao longo de sua periferia. As placas contendo a suspensão foram acondicionadas em incubadoras tipo B.O.D, sem presença de luz, em temperaturas de 10°; 15°; 20°; 25°; 30° e 35° C. As avaliações iniciaram após 12 horas, e consistiram na contagem de conídio germinados. O conídio foi

considerado germinado quando apresentava tubo germinativo com comprimento igual ou superior a 50% da maior dimensão do esporo avaliado. Foram observados, de forma aleatória, 50 conídios por lamínula. O experimento foi montado em DIC, com quatro repetições, onde uma lamínula = a uma repetição. A variável dependente consistiu no número de conídios germinados.

Patogenicidade e virulência de espécies de *Colletotrichum* spp. a frutos a gama de hospedeiros

A patogenicidade e virulência das espécies de *Colletotrichum* a gama de hospedeiros foi estimada por meio da inoculação em frutos de quatro potenciais espécies hospedeiras: banana (cv. Pacovan), goiaba (cv. Paluma), manga (cv. Tommy Atkins) e maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*). Antes da inoculação cada fruto foi desinfestado por meio de sua lavagem com detergente e água destilada estéril (ADE), seguida da imersão em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% por 3 min, com posterior lavagem com ADE e secagem em temperatura ambiente. Após a secagem, cada fruto foi lesionado com o auxílio de um cortador de cortiça estéril, com 3mm de diâmetro. Para confecção das lesões o cortador foi pressionado sobre os frutos até provocar um corte circular com ~3mm de profundidade. Foram feitos três ferimentos por fruto, com 5cm de distância entre si (Figura 1). Para cada interação isolado x hospedeiro, disco contendo estruturas do patógeno foi depositado sobre os pontos lesionados. Em seguida o fruto foi posto em condição de câmara úmida. Para isto, frutos inoculados foram depositados em bandeja plástica forrada com toalhas de papel umedecidas com ADE; o conjunto bandeja/frutos foi envolto com um saco plástico para manter a condição de umidade elevada. Após 48h o saco plástico foi retirado e o conjunto mantido em temperatura ambiente. Após sete dias de incubação foi determinada a patogenicidade, caracterizada pelo desenvolvimento de lesões nos pontos inoculados, e a severidade estimada por meio da estimativa do diâmetro médio (mm) das lesões (cada lesão foi mensurada em duas direções perpendiculares).

O experimento foi montado em DIC com três repetições, onde cada lesão constituiu uma repetição. A variável dependente foi presença de lesão e diâmetro médio de lesão para patogenicidade e severidade, respectivamente.

Efeito do tiofanato-metílico no crescimento micelial de *Colletotrichum* spp.

A eficácia de tiofanato-metílico no controle de antracnose em mamoeiro, causada por diferentes espécies de *Colletotrichum*, foi avaliada *in vivo* por meio da estimativa da intensidade de doença em frutos de mamoeiro tratados com uma das formulações comerciais do produto (Cercobin 700WP, 700g kg⁻¹ de ingrediente ativo, Iharabras, São Paulo, SP, Brasil). O ensaio foi realizado em frutos de mamão da cultivar *Papaya carica* não tratados anteriormente com qualquer fungicida. O fungicida é registrado para cultura do mamão para o controle da verrugose causada por *Asperisporium* ssp (Agrofit, 2019). Apesar de não ser registrado para o controle da antracnose, produtores das áreas onde realizou-se as coletadas, atestaram a utilização do tiofanato metílico, devido a eficácia no controle quando este é utilizado. Os frutos foram desinfestados conforme descrito no item anterior. Após a secagem, os frutos imersos em recipiente esterelizado contendo solução do fungicida segundo a dose recomendada para antracnose em mamão de 100g do produto para 100 litros de água. A dose utilizada neste trabalho foi preparada pela dissolução do Cercobin em ADE, sendo 1g do fungicida por L⁻¹. Em seguida os frutos foram dispostos em prateleiras para o escoamento. Após secagem, a epiderme do fruto foi lesionada em três pontos distintos e a inoculação e avaliação realizada conforme descrito no item anterior. O experimento foi conduzido em DIC com três repetições, onde cada fruto constituiu uma repetição (Figura 2). A variável dependente foi o diâmetro médio de lesão (constituído pela média do diâmetro das três lesões/fruto). O tratamento controle foi constituído por frutos inoculados com *Colletotrichum* spp. sem tratamento prévio com a calda fungicida.

Análise dos dados

Para cada experimento, dados independentes das duas repetições, foram reunidos após o teste de homogeneidade de análise de variância (ANOVA). Para o experimento de gama de hospedeiros, os dados foram submetidos ao teste de comparação de médias Tukey. Para o teste com fungicida, os valores obtidos da ANOVA foram submetidas as médias e comparados utilizando o Teste T de Student (P=0,05). ANOVA e as comparações de médias foram realizada com o software Statistix 9.0 (Statistix 2009).

No experimento de diferentes temperaturas, os diâmetros das lesões versus temperatura, foram ajustadas à curva de regressão usando o modelo polinomial cúbico ($y = a + bx + cx^2 + dx^3$). Os dados obtidos pelo ensaio de germinação de conídios foram estimados usando o modelo logístico não linear Lorentzian $y = a/1+(x-b/c)^2$. O resumo numérico dos experimentos foi

realizado com o auxílio do software TableCurve™ 2D 5.01 (Systat Software Inc., 2006). Os resultados foram representados graficamente com auxílio do software SigmaPlot versão 10 (SigmaPlot, 2006).

Resultados

Efeito da temperatura no crescimento da colônia e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp.

As espécies de *Colletotrichum* diferiram quanto a temperatura ótima de crescimento micelial. As espécies cresceram nas temperaturas acima de 26,04°C e abaixo de 27,26°C. As temperatura ótima de crescimento micelial para cada espécie foi: *C. chrysophilum* (26,41°C), *C. fructicola* (26,91°C), *C. gloeosporioides* (27,01°C), *C. karstii* (26,04°C), *C. okinawense* (27,03°C), *C. plurivorum* (27,09°C), *C. queesnlandicum* (27,26°C), *C. siamense* (26,79°C), *C. scovillei* (27,12°C) e *C. theobromicola* (26,79°C). A espécie *C. karstii* diferiu significativamente na temperatura de 26,04°C obtidas pela derivada das equações de regressão. Nenhum dos isolados cresceram nas temperaturas de 10°C e 35° C (Figura 2). As espécies de *Colletotrichum* diferiram quanto a temperatura ótima de germinação de conídios entre os isolados. Para *C. chrysophilum* (28,06°C), *C. fructicola* (28,96°C), *C. gloeosporioides* (30,06°C), *C. karstii* (27,74°C), *C. okinawense* (27,91°C), *C. plurivorum* (23,55°C), *C. queesnlandicum* (30,05°C), *C. siamense* (29,82°C), *C. scovillei* (29,82°C) e *C. theobromicola* (28,06°C). *C. plurivorum* diferiu das demais espécies tendo sua a germinação na menor temperatura avaliada (Figura 3).

Patogenicidade e virulência de *Colletotrichum* spp. a gama de hospedeiros

As 10 espécies de *Colletotrichum* demonstraram diferença significativa na virulência quanto os hospedeiros avaliados (Tabela 1). Em frutos de maracujá nenhuma das espécies testadas causaram doença nos frutos. Em banana, *C. theobromicola* (27,72) foi a espécie mais virulenta, e diferiu significativamente das outras espécies. Em contrapartida, a espécie *C. okinawense* (7,11) foi o menos virulento neste hospedeiro. Com relação a goiaba, a espécie mais virulenta foi *C. chrysophilum* (35,08) e *C. theobromicola* (35,72) apresentaram diferença significativa. As espécies *C. okinawense* (13,88) e *C. karstii* (21,27) demonstram baixa virulência em relação as outras

espécies. Em manga, não houve diferença significativa entre as espécies e *C. karstii* e *C. okinawense* não apresentaram sintomas da doença neste hospedeiro.

Efeito do tiofanato-metílico no crescimento micelial de *Colletotrichum* spp.

Os tratamentos utilizados apresentaram diferença significativa entre si, com um nível de probabilidade ($p=0,0001$) para maioria das espécies e de pouco mais de 1% para *C. okinawense*. Todas as espécies causaram lesões no frutos não tratados com o fungicida. Oito espécies de *Colletotrichum* não apresentaram lesões nos frutos tratados com tiofanato metílico, demonstrando uma alta eficácia deste fungicida. As espécies *C. scovillei* (10,0), e *C. okinawense* (20,44) diferiram significativamente das outras espécies demonstrando baixa eficácia do tiofanato metílico por apresentarem lesões nos frutos (Tabela 2).

Discussão

Neste trabalho foi realizado epidemiologia comparativa de dez espécies de *Colletotrichum* relatadas recentemente na cultura do mamoeiro (Nunes, 2019). Este é o primeiro trabalho que demonstra a patogenicidade e virulência em diferentes hospedeiros, efeito da temperatura no crescimento micelial e germinação de conídios e sensibilidade a tiofanato metílico sobre a doença antracnose na espécies *C. fructicola*, *C. theobromicola*, *C. gloeosporioides*, *C. plurivorum*, *C. okinawense*, *C. chrysophilum*, *C. queeslandicum*, *C. scovillei*, *C. siamense* e *C. karstii* em frutos de mamão no Brasil.

Características como a temperatura de crescimento micelial e germinação de conídios das diferentes espécies de *Colletotrichum* ainda não está claro (Tozze Júnior et al. 2015). A temperatura é um fator importante que afeta as epidemias de doença de planta. Pode afetar a germinação de esporos, período latente, esporulação, sobrevivência de esporos e resistência do hospedeiro a muitos patógenos (Harvell et al. 2002; Suzuki et al. 2007). O efeito inibidor da temperatura sobre o crescimento dos fungos é bastante variável, porém a maioria das espécies de *Colletotrichum* apresentam melhor desenvolvimento entre 20°C e 28°C (Damm et al. 2012a; Bonde et al. 2012). O mamoeiro é tipicamente tropical, e tem como principal característica o pleno desenvolvimento em regiões que apresentam temperaturas de 22 a 28 °C e umidade relativa acima de 60% (Reis et al. 2015; Souza; Coelho; Oliveira, 2000), o que pode explicar a alta incidência da doença nessa faixa de temperatura. Entretanto, Bonde et al. (2012) em estudos realizados, relatou que várias espécies apresentam melhor desenvolvimento em temperaturas

mais elevadas, tendo o ponto máximo de crescimento na temperatura de 28°C. Os autores ainda observaram o incremento no crescimento com a elevação da temperatura até 28°C, e a temperatura ótima de crescimento também dependeu do isolado, ocorrendo entre 25°C e 30 °C. Lu et al. (2018) observaram a temperatura ótima de *C. truncatum*, isolado de soja, de 25°C, enquanto que a de *C. siamense*, *C. fioriniae* e *C. karstii* coletada de plantas de camélia era de 26 a 28°C. Neste trabalho, as espécies avaliadas, tiveram crescimento micelial ótimo em uma temperatura média entre 26,04 e 27,26°C. Se levarmos em consideração as médias das temperaturas das regiões onde as espécies foram coletadas nota-se uma equiparidade nas temperaturas apresentadas, ou seja, quando a temperatura é mais alta em determinada região, há uma incidência maior de espécies de *Colletotrichum*. Entretanto quando o estado apresenta uma temperatura média menor, o fungo se desenvolve menos ou não se desenvolve, mantendo -se em latência por não encontrar condições ótimas de crescimento. Neste estudo, também foi possível notar que não houve crescimento nas temperaturas extremas (10 e 35°C). Essas temperaturas são próximas à limitrofe para o crescimento das espécies, por causar redução drástica ou inibição do crescimento micelial. Porém, essas temperaturas são responsáveis por aumentar o tempo para iniciar uma epidemia ou ainda atuam de maneira direta nos seus componentes, como por exemplo, aumentando o período latente e de incubação (Han et al. 2016; Rotem, 1978; Wilson et al. 1990). A partir dos efeitos da temperatura, descobrimos que as espécies encontradas eram sensíveis a temperaturas extremas, mas nas condições ideais não eram limitantes a patogenicidade em frutos de mamão. Além disso, a temperatura da região corrobora diretamente para o surgimento da doença, já que espécies desse gênero se desenvolvem melhor quando as condições de temperatura da região são totalmente favoráveis.

A germinação dos esporos de espécies de *Colletotrichum* acontece na presença de água livre e/ou umidade relativa do ar próxima a 100%, com uma temperatura ótima de 28°C (Poltronieri et al. 2013). O processo de germinação tem duração média de 08 a 12 horas, com posterior penetração do hospedeiro (Ventura; Costa; Tatagiba, 2003). Neste estudo, a germinação de *Colletotrichum* sp. ocorreu na faixa de temperatura de 15°C a 30°C no período de 12 horas. Porém a temperatura ótima variou entre 27°C a 30°C para todas as espécies. Vários trabalhos demonstraram que temperaturas em torno de 25°C são ideais para a germinação de conídios de *Colletotrichum* sp., entretanto essa temperatura varia entre as diferentes espécies (Wilson et al. 1990; Peng et al. 2012). Poltronieri et al. (2013) citaram a faixa de 28°C - 30°C, como ótima para a germinação de conídios de *C. gloeosporioides*, enquanto que no trabalho de Maia et al. (2011) o

intervalo encontrado foi de 25°C a 30°C para a germinação de conídios do mesmo patógeno. Estes resultados demonstram que temperaturas mais altas, podem iniciar o ciclo de infecção da doença e desenvolvimento do patógeno já que, após a penetração da cutícula, as hifas subcuticulares permanecem quiescentes até o início do amadurecimento dos frutos, quando surgem os sintomas de antracnose (Peng et al. 2012). A quiescência deste fungo está relacionada com a produção de compostos antifúngicos e/ou liberação de etileno, que favorece a germinação dos esporos de *Colletotrichum* spp. (Prusky, 1996).

A partir dos dados analisados quanto a patogenicidade e virulência, foi possível observar diferenças significativas do agente patogênico das espécies de *Colletotrichum* para os hospedeiros banana, goiaba, manga que expressaram diferentes níveis de virulência nos frutos. A partir dos resultados obtidos, é possível afirmar que a patogenicidade das dez espécies de *Colletotrichum* nos hospedeiros alternativos (banana, goiaba e manga) indicou que os patógenos não demonstram especificidade do hospedeiro, mas sim uma preferência. Esta observação é consistente com outros estudos envolvendo esse fungo inoculado em vários hospedeiros. Por exemplo, pimentão, goiaba, manga, mamão e maçã foram inoculadas com *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. siamense* e *C. simmondsii* e desenvolveram sintomas de antracnose (Phoulivong et al. 2010), enquanto que *C. karstii*, *C. orchidearum* e *C. siamense* foram mostrados infectando frutos de maçã, pimentão e tomate (Yang et al. 2012). Esses dados eram consistentes com os relatos na literatura que o gênero *Colletotrichum* que compreende sofisticadas espécies com uma ampla gama de hospedeiros. Portanto pode-se falar que algumas espécies de *Colletotrichum* demonstram preferência por esses hospedeiros.

A pouca ou nenhuma virulência apresentada por *C. okinawense* nas culturas testadas pode sugerir que esta espécie exerce uma preferência por frutos de mamão. Entretanto, não se pode afirmar que este hospedeiro seja específico para *C. okinawense*, estudos prévios identificaram essa espécie apenas na cultura do mamão, no Japão e no Brasil e ainda são necessários mais estudos para chegar a esta conclusão (Nunes, 2019; Weir et al. 2012). A virulência dos demais isolados, podem estar envolvidos com a variabilidade de certas espécies de *Colletotrichum* que podem ou não exibir preferência por cultivares.

Os fungicidas são amplamente utilizados para o controle da antracnose do mamão. O tiofanato metílico é registrado para o controle de diversas doenças como *Asperisporium caricae* e *Oidium caricae* (Agrofit, 2019). Entretanto, esse princípio ativo ainda não está registrado para o controle da antracnose em mamão. Apesar disso, as informações coletadas com produtores,

revelaram que atualmente, este é o fungicida mais usado nas áreas onde se localiza os principais centros de produção do fruto no País. Segundo informações pessoais, o uso de tiofanato metílico para o controle de antracnose, vem demonstrando resultados mais eficaz de controle da doença. Neste trabalho, os testes realizados para demonstrar a eficiência de tiofanato metílico, demonstram uma alta sensibilidade para a maioria das espécies expostas ao fungicida, quando comparadas com o tratamento sem aplicação do mesmo. As espécies *C. Chrysophilum*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides*, *C. karstii*, *C. plurivorum*, *C. queenslandicum*, *C. siamense* e *C. theobromicola* quando o fungicida foi aplicado, inibiu completamente o desenvolvimento a doença, demonstrando uma alta eficácia para o controle da doença. Entretanto para as espécies, *C. scovilei* e *C. okinawense* o tiofanato metílico não conseguiu inibir da formação de lesões, demonstrando uma baixa eficácia para essas espécies. Nunes (2019) revelaram que *C. okinawense* é a espécie prevalente na maioria das áreas coletadas. A partir dessas análises, foi observada que a dose aplicada nesses locais não está sendo eficaz, quando se trata de controle da espécie prevalente. Isso pode ser explicado pelo fato de em algumas áreas devido ao abuso ou uso irregular deste fungicida pode ter gerado um processo de seleção da população das espécies (Pereira et al. 2009). Isso implica diretamente na não recomendação da aplicação desse fungicida nesses locais onde a espécie é prevalente pois sua intensa capacidade de multiplicação fornecem uma ampla oportunidade para a seleção de linhagens resistentes surgidas espontaneamente. Entretanto, para as demais áreas, apesar do tiofanato metílico não ser registrado para o controle desta doença, este ensaio demonstrou sua alta eficácia no controle da antracnose tornando-o um potencial agente de controle a ser considerado em estudos posteriores e para um eventual registro deste fungicida para antracnose em frutos de mamão.

Este estudo epidemiológico comparativo de espécies de *Colletotrichum* encontradas no Brasil, forneceu informações importantes para o desenvolvimento de estratégias de manejo da antracnose do mamão. Foram identificadas as espécies mais virulentas em diferentes hospedeiros e foram obtidas a temperatura ótima tanto para o crescimento micelial quanto para a germinação de conídios de cada espécie avaliada. Além disso, o tiofanato metílico, demonstrou uma alta eficácia para controle da maioria das espécies, demonstrando uma alternativa viável para controle da antracnose do mamão e um possível registro deste fungicida para a doença nesta cultura. O comportamento diferenciado encontrado entre as espécies neste estudo, provavelmente representa características próprias das mesmas e pode ser útil na distinção entre espécies e na aplicação e implementação de medidas de controle no combate a antracnose do mamão no Brasil.

Referências

- Agrios GN. (2005). Plant Pathology, 5 th Ed. p.922. Academic Press, San Diego Agrios GN. Plant Pathology, 5th Ed. p.922. Academic Press, San Diego.
- Agrofit - Agrotóxicos fitossanitários registrados no Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA). (2019). Available from: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. (Accessed 06 the March 2019).
- Basulto, F. R., Plaza, O., Alonso, J., Fernández y A, Saavedra. (2011). Control de dos especies de *Colletotrichum* causantes de antracnosis en frutos de papaya Maradol. Revista Mexicana de Ciências Agrícolas. 2(5): 631-643.
- Bonde, M. R., Nester, S. E., and Berner, D. K. (2012). Effects of daily temperature highs on development of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean. *Phytopathology* 102:761-768.
- Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., CROUS, P. W. (2012a) The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology* 73: 37–113.
- Doyle, V. P., Oudemans, P. V., Rehner, S. A., Litt, A. (2013). Habitat and host indicate lineage identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. from wild and agricultural landscapes in North America. *PLoS One*: 62394.
- Han, J., Chon, J., Ahn, J., Choi, I., Lee, Y., Kim, K. S. (2016). Whole genome sequence and genome annotation of *Colletotrichum acutatum*, causal agent of anthracnose in pepper plants in South Korea. *Genomics data*, v. 8, p. 45-46.
- Harvell, C. D., Mitchell, C. E., Ward, J. R., Altizer, S., Dobson, A. P., Ostfeld, R. S., and Samuel, M. D. (2002). Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science* 296:2158-2162.
- Lu, Qinhua., Wang, Yuchun., Li, Nana., Ni, Dejiang., Yang, Yajun., Wang, Xinchao. (2018). Differences in the Characteristics and Pathogenicity of *Colletotrichum camelliae* and *C. fructicola* Isolated from the Tea Plant (*Camellia sinensis* (L.)). *Front Microbiol.* 9: 3060.
- Kimati, H.; amorim, L.; Bergamin filho, A.; Camargo, L.E.A.; Rezende, J.A.M. (1997). Manual de Fitopatologia, Volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas, 663p.
- Lakshmi, B. K. M., Reddy P. N., Prasad R.D. (2011). Cross-infection Potential of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Isolates Causing Anthracnose in Subtropical Fruit Crops. *Tropical Agricultural Research* Vol. 22 (2): 183 – 193.

- Maia, F. G. M., Armesto, C., Zancan, W. L. A., Maia, J. B., Abreu, M. S. (2011). Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 27, n. 2, p. 205-210.
- Moe, M. Oo., Sang-Keun, Oh. (2018). Chilli anthracnose (*Colletotrichum* spp.) disease and its management approach. *Korean Journal of Agricultural Science*.
- Nunes, A. S. (2019). Taxonomia e epidemiologia comparativa de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do mamão no Brasil. (Trabalho de Tese). Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- Paull, R. E., Nishijima, W., Reyes, M., Cavaletto, C.C. (1997). Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology* 11:165-179.
- Parreira, F.D., Neves, W.S., Zambolim, L. (2009). Resistência de Fungos a Fungicidas Inibidores de Quinona. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*. v. 3, n. 2, p. 24.
- Peng, L., Yang, Y., Hyde, K. D., Bahkali, A. H., Liu, Z. (2012). *Colletotrichum* species on Citrus leaves in Guizhou and Yunnan provinces, China. *Cryptogamie Mycol* 33:267–283.
- Peres, N. A., Timmer, L. W., Adaskaveg, J. E., Correll, J. C. (2005). Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease* 89:784- 796.
- Peng, L. J., Yang, Y. L., Hyde, K. D., Bahkali, A. H., Liu, Z. Y. (2012). *Colletotrichum* species on citrus leaves in Guizhou and Yunnan provinces, China. *Cryptogam., Mycol.* 33:267-283.
- Poltronieri, T. P. S., Azevedo, L. A. S., Silva, D. E. M. (2013). Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, isolados de frutos de palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart). *Summa Phytopathologica*, v.39, n.4, p.281-285.
- Photita, W., Taylor, P. W. J., Ford, R., Lumyong, P., Mckenzie, E. H. C., Hyde, K. D., Lumyong, S. (2005). Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. *Fungal Diversity* 18: 117-133.
- Phoulivong, S. (2011). *Colletotrichum*, naming, control, resistance, biocontrol of weeds and current challenges *Current Research in Environmental Applied Mycology* 1(1):53–73.
- Prusky, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. (1996). *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 34, p.413-434.

- Reis, R. C., Viana, E. S., Jesus, J. L., Dantas, J. L. L., Lucena, R. S. (2015). Caracterização físico-química de frutos de novos híbridos e linhagens de mamoeiro. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.50, n.3, p.210-217.
- Ribeiro, J. G., Serra, I. M. R. S., and Araújo, M. U. P. (2016). Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. *Summa Phytopathologica*, v.42, n.2, p.160-164.
- Rotem, J. Climate and weather influence on epidemics. In: Horsfall, J. G.; Dimond, A. E. (1978). *Plant disease: how disease develops in populations*. New York: Academic, p. 317-436.
- Serrano, L. A. L., Cattaneo, L. F. (2010). O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.32, n.3, p.657-959.
- Serra, I. M. R. S., Coelho, R. S. B., Ferraz, G. M. G., Montarroyos, A. V. V., Silva D. S. (2011). Diversidade fenotípica e patogênica de *Colletotrichum*, agente causal da antracnose em mangueira, e identificação de espécie. *Summa phytopathol.* vol.37 n 1.
- Secedex. Secretaria de Comércio Exterior (2018). Available from <http://portal.siscomex.gov.br/legislacao/orgaos/secretaria-de-comercio-exterior-secex> (Accessed 27 January 2019).
- SigmaPlot (2006). Systat Software, San Jose, CA) for Windons version 10.
- Souza, L. S., Coelho, E. F., Oliveira, A. M. G. (200). Exigências edafoclimáticas. In: Trindade, V.A. (Org). *Mamão produção*. Brasília: Embrapa, p. 16-17
- Statistix (2009). Statistix 9: Analytical Software Tallahassee, FL.
- Systat Software Inc- ssi. TableCurve 3D, version4. (2006).
- Solano, V., Arauz, L.F. (1995). Combate de antracnosis en frutos de papaya mediante aplicaciones de fungicidas en el campo en la zona atlântica de Costa Rica. *Agronomia Costarricense* 19:25-30.
- Suzuki, M. S., Zambolim, L., Liberato, J. R. (2007). Progress of fungal diseases and correlation with climatic variables in papaya. *Summa phytopathol.* vol.33 nº 2.
- Tozze Júnior, H. J.; Firmino, A. C.; Fischer, I. H.; Furtado, E. L.; Massola Júnior, N. S. (2015). Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados às frutíferas no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, v.41, n.4, p.270-280.
- Ventura, J. A.; Costa, H.; Tatagiba, J. S. (2003). Manejo das doenças do mamoeiro. In: Martins, D. S.; Costa, A. F. S. (Eds.). *A cultura do mamoeiro: tecnologia de produção*. Vitória: INCAPER, p. 231-308.

- Weir, B. S., Johnston, P. R., Damm, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. Studies in Mycology. Holanda, 2012.
- Wilson, L. L., Madden, L. V., and Ellis, M. A. 1990. Influence of temperature and wetness duration on infection of immature and mature strawberry fruit by *Colletotrichum acutatum*. Phytopathology 80:111-116.
- Yang, Y. L., Cai, L., Yu, Z., Liu, Z., & Hyde, K. D. (2012). *Colletotrichum* species on Orchidaceae in southwest China. Cryptogamie Mycologie, 32, 229–253.



Figura 1- Frutos de banana e goiba inoculados com espécies de *Colletotrichum* apresentando lesões de antracnose sobre os frutos feitas mecanicamente com um furador de metal de aproximadamente 3mm de profundidade.



Figura 2- Fruto de mamão inoculados com tiofanato metilico sobre espécies de *Colletotrichum*.

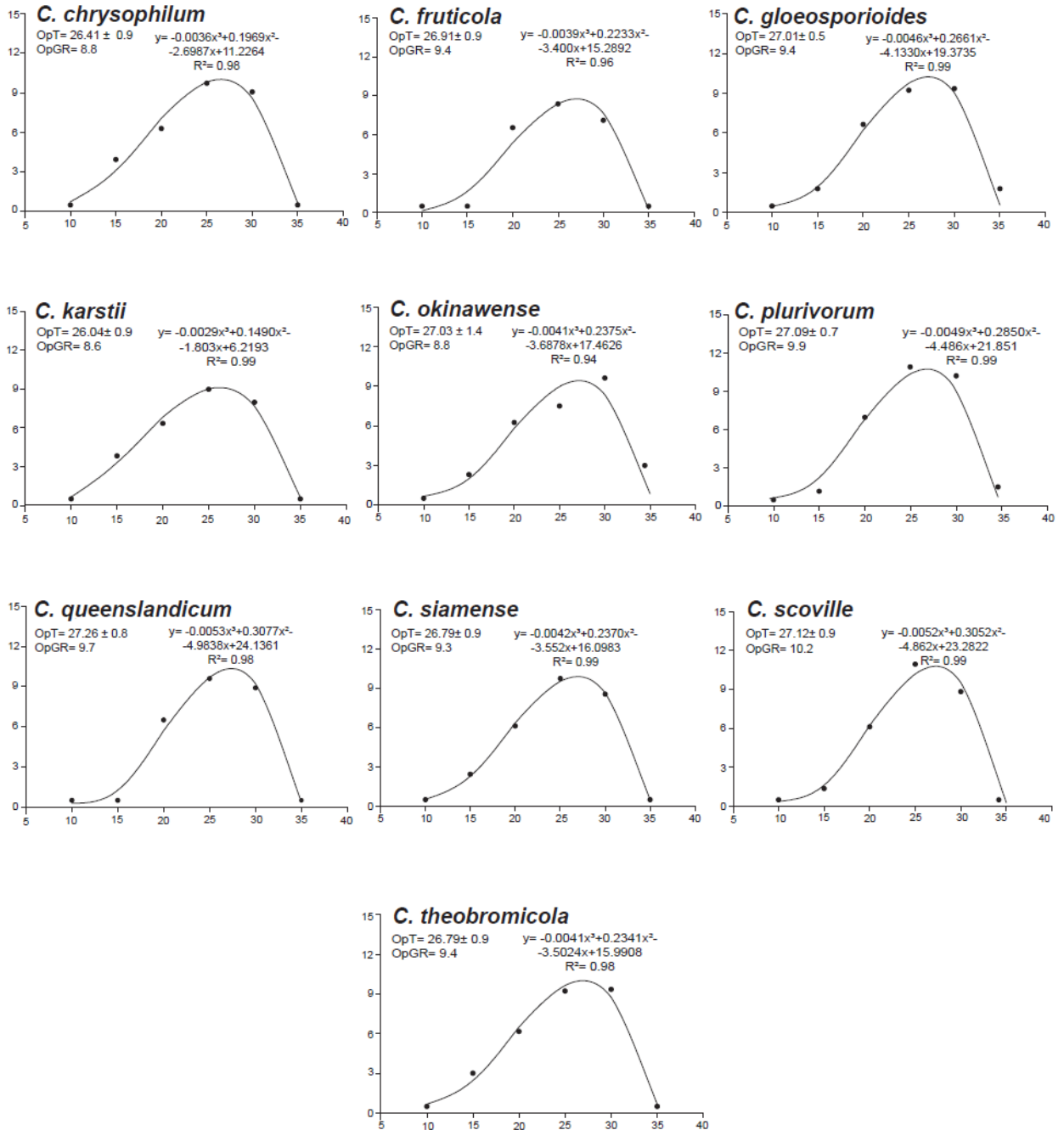


Figura 3- Temperatura ótima para o crescimento de 10 isolados de espécies de *Colletotrichum* estimada pelo ajuste do modelo polinomial cúbico ($y = a + bx + cx^2 + dx^3$), onde y = crescimento micelial; a , b , c , são coeficientes de regressão e R^2 , coeficiente de determinação. O eixo X corresponde as temperaturas (C°) e o eixo y correspondem ao crescimento das espécies (cm).

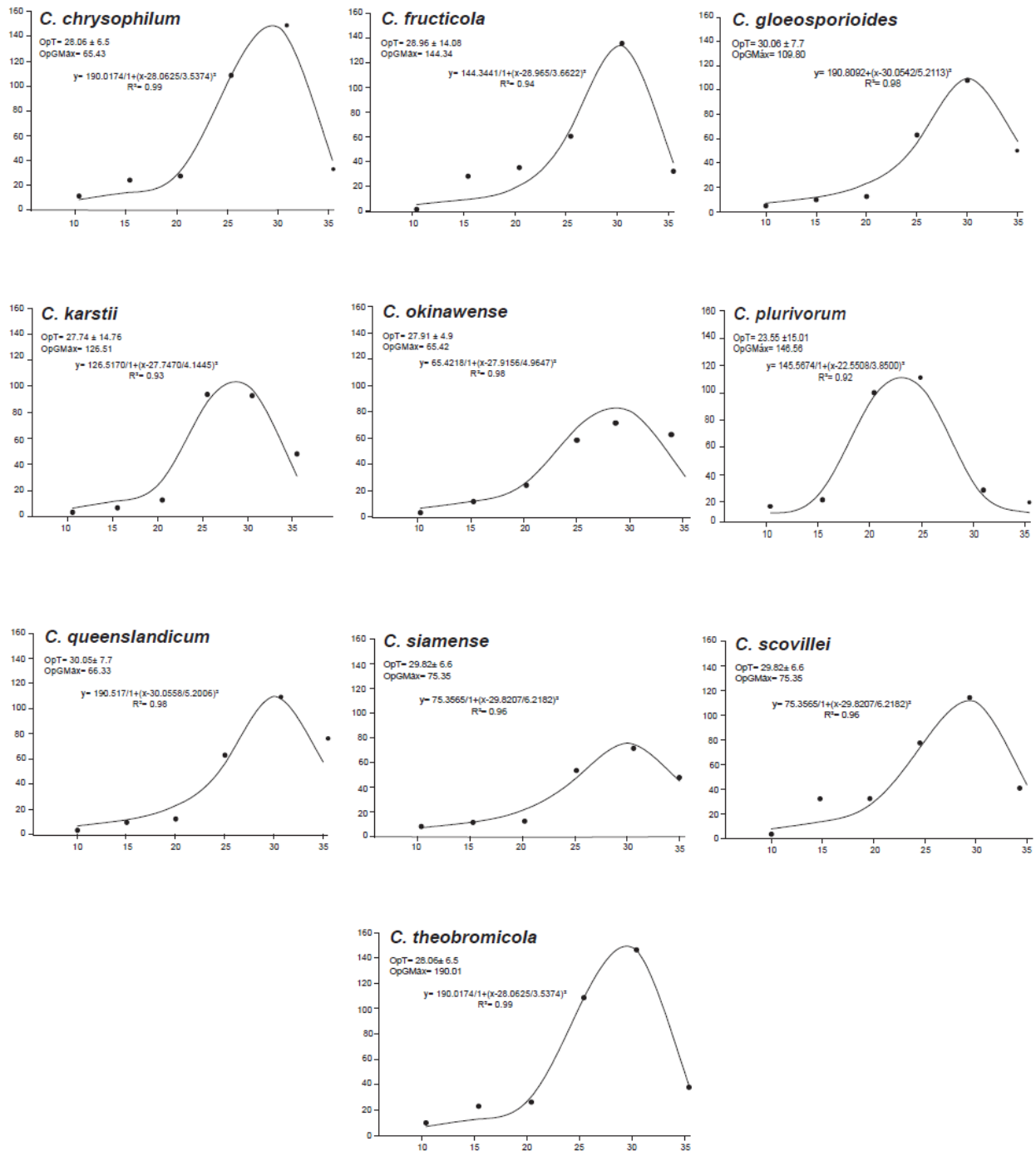


Figura 4- Temperatura ótima para a germinação de conídios de 10 isolados de espécies de *Colletotrichum* estimada pelo modelo logístico não linear Lorentzian [$y = a / (1 + (x - b/c)^2$], onde y = crescimento micelial; a , b , c , são coeficientes de regressão e R^2 , coeficiente de determinação. O eixo x corresponde as temperaturas (C°) e o eixo y correspondem a quantidade máxima de conidos germinados.

Tabela 1- Virulência de espécies de *Colletotrichum* em diferentes hospedeiros

Espécie	Banana ¹²	Goiaba ¹²	Manga ¹²
<i>C. chrysophilum</i>	18,72 ± 1,3 bc	35,08 ± 2,5 a	17,20 ± 2,3 abc
<i>C. fructicola</i>	24,00 ± 1,0 ab	34,94 ± 2,1 abc	28,62 ± 4,1 ab
<i>C. gloeosporioides</i>	20,44 ± 1,0 bc	23,22 ± 2,2 bcd	10,07 ± 4,2 bc
<i>C. karstii</i>	18,27 ± 0,7 abc	21,27 ± 2,4 e	0
<i>C. okinawense</i>	7,11 ± 2,1 d	13,88 ± 3,4 d	0
<i>C. plurivorum</i>	15,88 ± 1,8 c	23,05 ± 4,3 cd	18,79 ± 4,8 abc
<i>C. queenslandicum</i>	18,33 ± 1,7 bc	32,11 ± 2,4 abc	19,16 ± 4,8 abc
<i>C. scovillei</i>	17,50 ± 2,1 bc	30,11 ± 3,2 abc	28,26 ± 6,8 ab
<i>C. siamense</i>	23,11 ± 1,0 ab	28,22 ± 1,7 abc	27,38 ± 5,9 ab
<i>C. theobromicola</i>	27,72 ± 1,3 a	35,72 ± 3,5 ab	16,96 ± 4,2 abc

¹ Valores de virulência, expressões em mm (diâmetro da lesão).

² Valores da média ± desvio padrão seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p=0,05).

Tabela 2 – Virulência de espécies de *Colletotrichum* (diâmetro da lesão em mm) em mamões tratados e não tratados com tiofanato-metílico na concentração de 700mg/ml.

Espécie	Sem fungicida	Com fungicida	P* ¹
<i>C. chrysophilum</i>	10,07	0	0,0001
<i>C. fructicola</i>	14,21	0	0,0001
<i>C. gloeosporioides</i>	18,69	0	0,0001
<i>C. karstii</i>	19,04	0	0,0001
<i>C. okinawense</i>	29,25	20,44	0,0121
<i>C. plurivorum</i>	25,24	0	0,0001
<i>C. queenslandicum</i>	12,17	0	0,0001
<i>C. scovillei</i>	28,37	10,76	0,0001
<i>C. siamense</i>	19,12	0	0,0001
<i>C. theobromicola</i>	18,55	0	0,0001

¹ Valores de P menor que 0,05 indicam diferença significativa entre as medias pelo teste T de Student.

CAPÍTULO IV

Conclusões gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. Identificação e primeiro relato de *C. theobromicola* e *C. scovillei* no mundo;
2. Identificação e primeiro relato de *C. chrysophilum*, *C. queenslandicum*, *C. theobromicola*, *C. plurivorum*, *C. siamense*, *C. fructicola* e *C. scovillei* causando antracnose em frutos de mamão (*Cariaca papaya* L.) no Brasil;
3. Bahia, Paraíba e Espírito Santo são os estados com maior diversidade de espécies de *Colletotrichum* associadas à Antracnose em *Cariaca papaya* L., sendo *C. oknawense* a espécie prevalente Brasil;
4. Os isolados apresentaram temperatura ótima de crescimento micelial e germinação entre 26° e 28°C;
5. Ampla gama de hospedeiros das espécies de *Colletotrichum* associadas a frutos de mamão no Brasil constitui um sério problema para o manejo da antracnose;
6. Tiofanato-metílico é um potencial fungicida para o controle de antracnose em mamão. A identificação correta das espécies de *Colletotrichum* é essencial no desenvolvimento de estratégias eficientes de controle.