

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 1 – Número 4 – Nov/Dez (2018)

---

doi: 10.32406/v1n42018/39-51/agrariacad

## **Diversidade morfológica, genética e patogenicidade de *Colletotrichum* spp. associados à pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.)**

Morphological diversity, genetics and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. associates of chilean pepper (*Capsicum chinense* Jacq.)

Alessandro Machado da Silva<sup>1</sup>, Jânia Lilia da Silva Bentes<sup>1\*</sup>, Elisângela de Jesus da Silva Bezerra<sup>1</sup>, Marceley Cristine de Andrade<sup>1</sup>

<sup>1</sup>- Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, UFAM. Manaus-Amazonas, Brasil.

\*Autor para correspondência: Jânia Lilia da Silva Bentes. [jlbentes@ufam.edu.br](mailto:jlbentes@ufam.edu.br)

---

### **Resumo**

O cultivo de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) está sujeito ao ataque doenças, como a antracnose que afeta, principalmente, os frutos impedindo a comercialização. Esse trabalho teve por objetivo realizar a caracterização morfofocultural, molecular e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro, coletados em municípios produtores do Estado do Amazonas. Foi observada alta variabilidade nas características morfofoculturais, no índice de crescimento micelial e na morfometria de conídios e apressórios. Diferenças significativas foram observadas na severidade, diâmetro médio de lesões e incidência quando os isolados foram inoculados em quatro espécies de *Capsicum*. A genotipagem por Ap-PCR evidenciou alta diversidade genética entre isolados de uma mesma procedência sugerindo a ocorrência de mais de uma espécie do patógeno associada à antracnose em pimenta-de-cheiro no Estado do Amazonas.

**Palavras-chaves:** Antracnose, pimentas, caracterização.

### **Abstract**

The cultivation of chilli pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) is subject to the attack of several diseases, like anthracnose that mainly affects the fruits preventing the commercialization. The objective of this work was to perform the morphocultural, molecular and pathogenic characterization of *Colletotrichum* spp. from chilli pepper, collected in producing municipalities of the State of Amazonas. High variability was observed in morphological characteristics of color and topography of colonies, mycelial growth index, and morphometry of conidia and apossoria. Significant differences were observed in the severity, mean diameter of lesions and incidence when the isolates were inoculated in four species of *Capsicum*. Ap-PCR genotyping evidenced high genetic diversity among isolates from the same source, and possibly, the existence of different species or complexes of species associated with anthracnose in chilli pepper in the State of Amazonas.

**Keywords:** Anthracnose, pepper, characterization.

---

## Introdução

A antracnose, causada por *Colletotrichum* spp. é uma das principais doenças em *Capsicum*, se desenvolve principalmente em regiões tropicais e subtropicais, podendo, acarretar prejuízos de até 100% na produção de frutos (REIS et al., 2009). No Estado do Amazonas, a antracnose da pimenta-de-cheiro tem se tornado alvo de atenção devido à sua frequente e severa ocorrência em diversas áreas produtoras (GASPAROTTO et al., 2014).

Frequentemente, mais de uma espécie de *Colletotrichum* têm sido relatadas causando antracnose em *Capsicum* spp. (ALMEIDA et al., 2017; SILVA et al., 2017; TOZZE JR. et al, 2006). ALMEIDA (2015), relatou a ocorrência de *C. scovillei*, *C. truncatum*, *C. brevisporum*, *C. siamense*, *C. fruticola*, *C. theobromicola* e *C. gloeosporioides* como agente causal da antracnose em pimenta-de-cheiro no Amazonas. A ocorrência de duas ou mais espécies de *Colletotrichum* parasitando um mesmo hospedeiro dificulta o controle da antracnose, devido ao comportamento diferenciado entre espécies (TOZZE JR. et al., 2015).

A identificação de espécies de *Colletotrichum* tem sido realizada tradicionalmente com base em características morfológicas e moleculares (ALMEIDA, 2015; SILVA et al., 2017; TORRES-CALZADA et al., 2011).

Estudos de caracterização, com base em caracteres morfológicos e moleculares, são fundamentais para conhecer a amplitude da variabilidade existente entre isolados de um determinado patógeno. Essas informações são essenciais para entender a relação patógeno-hospedeiro, realizar a correta diagnose da doença e desenvolver estratégias de manejo eficazes no controle (TOZZE JR. et al., 2015).

Este trabalho teve como objetivo estudar a diversidade morfológica, molecular e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados à antracnose da pimenta-de-cheiro no Estado do Amazonas.

## Material e Métodos

### Obtenção dos isolados e caracterização morfocultural

Foram estudados 40 isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos a partir de frutos de pimenta-de-cheiro com lesões típicas de antracnose, coletados nos municípios de Iranduba (IRPD03, IRPD04, IRPD05, IRPD06, IRPD08, IRPD09, IRPD10, IRPD18, IRPD22, IRPD30), Itacoatiara (REPD01, REPD02, REPD07, REPD08, REPD09, REPD10, REPD11, REPD12, REPD14, REPD15), Presidente Figueiredo (PFPD01, PFPD03, PFPD04, PFPD05, PFPD08, PFPD10, PFPD11, PFPD16, PFPD12, PFPD22) e Manaquiri (MQPD03, MQPD06, MQPD07, MQPD08, MQPD09, MQPD10, MQPD11, MQPD14, MQPD19, MQPD25) no Estado do Amazonas. Foi realizado o isolamento indireto (PINHO et al., 2016, p. 390) e obtidas as culturas monospóricas dos isolados, que foram preservados em tubos contendo meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) inclinado e pelo método Castellani (CASTELLANI, 1939) e mantidos em temperatura de laboratório ( $\pm 26$  °C).

Para a caracterização morfocultural foram repicados discos de meio de cultura de 0,5 cm de diâmetro, contendo a colônia do fungo, para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio BDA acrescido do antibiótico cloranfenicol ( $250 \text{ mg.L}^{-1}$ ), e cultivados em temperatura de  $\pm 26$  °C,

sob luz contínua, por 10 dias. Foi avaliado o índice de crescimento micelial (ICM), segundo SALGADO et al. (2003), a cor (MUNSELL COLOR COMPANY, 1975) e topografia da colônia (PEREIRA, 2009).

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 40 tratamentos (isolados) e quatro repetições (placas), cada placa constituiu uma unidade experimental. Os dados do ICM foram submetidos à análise de variância (Anova) e as diferenças entre as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa Assistat 7.7 Beta (24).

Para a caracterização morfológica de conídios foi preparado uma suspensão na concentração de  $10^5$  conídios.mL<sup>-1</sup> de cada isolado, obtidos de colônias com 10 dias de crescimento, cultivadas em meio BDA acrescido do antibiótico cloranfenicol (250 mg.L<sup>-1</sup>), sob luz contínua e temperatura de  $\pm 26$  °C. Foi avaliado o comprimento, largura e relação entre o comprimento e a largura de 50 conídios de cada isolado. Para isso foram preparadas lâminas de microscopia em corante lactofenol e observadas em microscópio óptico Zeiss® sob objetiva de 40X.

A morfologia dos conídios foi classificada em: 1) fusiforme, com ápice afilados; 2) oblongo ou cilíndrico, com ápice arredondados; 3) clavado, afilado em uma extremidade e oblongo na outra e 4) constricto, oblongo com constrição na região mediana (SUTTON, 1992; TOZZE JR. et al., 2006).

Para a caracterização dos apressórios, três gotas de 20  $\mu$ L de suspensão de esporos na concentração de  $10^5$  conídios.mL<sup>-1</sup>, foram depositadas sobre uma lâmina de microscopia esterilizada, previamente forrada com papel celofane transparente e acondicionadas em placas de Petri forrada com papel de filtro esterilizado, umedecido com água destilada e autoclavada. Após 24 horas, a germinação foi interrompida com solução de lactofenol. Foi mensurado o comprimento, largura e a relação entre o comprimento e a largura de 50 apressórios de cada isolado, sendo classificados quanto à morfologia em: 1) lobados; 2) levemente lobado e 3) arredondados (SUTTON, 1992; TOZZE JR. et al., 2006).

Os resultados da morfometria de conídios e apressórios foram submetidos à análise de variância (Anova) e as diferenças entre as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa Assistat 7.7 Beta (SILVA, 2009).

## Genotipagem por Ap-PCR

Para a genotipagem foram selecionados 34 isolados de *Colletotrichum* spp., sendo sete do município de Itacoatiara (REPD01, REPD02, REPD07, REPD09, REPD10, REPD11 e REPD12); onze de Iranduba (IRPD03, IRPD04, IRPD05, IRPD06, IRPD08, IRPD09, IRPD10, IRPD18, IRPD22, IRPD28 e IRPD30); sete de Presidente Figueiredo (PFPD03, PFPD04, PFPD08, PFPD10, PFPD16, PFPD18 e PFPD22) e nove de Manaquiri (MQPD03, MQPD06, MQPD08, MQPD09, MQPD10, MQPD11, MQPD14, MQPD19 e MQPD25).

A extração do DNA foi realizada conforme o método descrito por RAEDER e BRODA (1985), modificado por BENTES e COSTA NETO (2011). O DNA obtido foi quantificado em espectrofotômetro (ND-1000, Nanodrop), à razão A260nm/A280nm e as suspensões diluídas até a concentração de 50 ng DNA/ $\mu$ L. Foram utilizados os oligonucleotídeos arbitrários derivados de

marcadores microssatélites: GAGA<sub>4</sub> (5'GACAGACAGACAGACA3'), GTG<sub>5</sub> (5'GTGGTGGTGGTGGTG3') e M<sub>13</sub> (5'GAGGGTGGCGGTTCT3') (Biosearch Biotechnologies).

A reação foi realizada em volume total de 25µL, utilizando o Kit pureTaq™ Ready-To-Go PCR Beads (GE Healthcare) de acordo com as instruções do fabricante. Após a amplificação, os produtos das PCRs foram aplicados em gel de agarose 1,8% contendo 2 µL de brometo de etídio. A corrida eletroforética foi realizada em corrente constante de 60 volts.cm<sup>-1</sup> por 50 minutos. As bandas de DNA foram visualizadas em transiluminador ultravioleta e fotografadas. A partir da amplificação com os marcadores foi construída uma matriz binária com base na presença ou ausência de bandas. A similaridade genética entre os isolados foi estimada usando o coeficiente de Nei & Li (NEI e LI, 1979). A matriz de similaridade foi analisada pelo método de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average*). O programa Genes foi empregado para gerar a matriz dos valores cofenéticos e testar a adequação da análise de agrupamento aos dados originais.

### Caracterização patogênica

O teste de patogenicidade cruzada foi realizado usando 20 isolados (IRPD03, IRPD04, IRPD06, IRPD10, IRPD18, PFPD03, PFPD04, PFPD08, PFPD10, PFPD22, REPD01, REPD02, REPD07, REPD10, REPD11, MQPD03, MQPD08, MQPD09, MQPD14 e MQPD19) de *Colletotrichum* spp., que foram repicados para placas de Petri contendo meio BDA acrescido do antibiótico cloranfenicol (250 mg.L<sup>-1</sup>) e incubadas a ± 26 °C sob luz contínua, por 10 dias.

Frutos de pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense*), pimenta murupi (*C. chinense*), pimentão (*C. annuum*) e pimenta dedo-de-moça (*C. baccatum* var *pendulum*) sadios e na fase inicial de maturação (início da mudança de coloração do fruto), foram adquiridos junto a produtores locais e lavados em água corrente e desinfestados em álcool 70% durante 5 minutos e em hipoclorito de sódio 2% durante 2 minutos, seguido de três lavagens em água destilada esterilizada por 1 minuto. Os frutos foram depositados em recipientes descartáveis de plástico transparente, medindo 24x16x4 cm, forrados com papel de filtro umedecido com água destilada esterilizada.

A inoculação foi feita na parte central do pericarpo de cada fruto, sem ferimento, pela deposição de uma gota de 20 µL de suspensão de inóculo, na concentração de 10<sup>5</sup> conídios.mL<sup>-1</sup>, de cada isolado, utilizando uma pipeta automática.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 20 x 4 (vinte isolados x quatro genótipos de *Capsicum*), com cinco repetições. A testemunha constou de 5 frutos de cada genótipo não inoculados com patógeno e tratados com água destilada esterilizada.

A avaliação da severidade foi realizada em dias alternados entre o segundo e o décimo dia após a inoculação (DAI), de acordo com a escala de descrição de sintomas proposta por MAHASUK et al. (2009a), onde: 1 – fruto não lesionado; 3 – fruto apresentando 1% a 2% da superfície com lesão necrótica ou lesão aquosa em torno do local da infecção; 4 – fruto apresentando 2% a 5% da superfície com lesão necrótica e presença de acérvulo, ou até 5 % com lesão aquosa; 6 – fruto apresentando 5% a 15 % da superfície com lesão necrótica e presença de acérvulo, ou até 15 % com lesão aquosa; 8 – fruto apresentando 15% a 25 % da superfície com lesão necrótica e presença de acérvulo; 10 – fruto apresentando mais de 25 % da superfície com lesão necrótica e presença de acérvulo.

Foi calculado o índice infecção de McKinney (McKINNEY, 1923), com base na severidade da doença, classificado em níveis de infecção, sendo: Baixa (BI)  $0 < SEV \leq 5$ ; Média (MI)  $5 < SEV \leq 15$ ; Alta (AI)  $15 < SEV \leq 25$ ; Muito Alta (MAI)  $SEV > 25$ . O diâmetro médio da lesão nos frutos foi avaliado, por meio da medição diária do comprimento e largura até o décimo dia após a inoculação. Foi quantificada a incidência, definida pela presença e/ou ausência de sintomas nos frutos, através de análises visuais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa ASSISTAT 7.7 Beta (SILVA, 2009).

## Resultados e Discussão

### Caracterização morfofocultural

Foi observada a predominância de micélio aéreo moderadamente abundante, em 77,5% dos isolados. Micélio aéreo abundante ocorreu em 12,5% dos isolados e aéreo reduzido em 10% (Tabela 1). Para 87,5% dos isolados a cor do micélio foi cinza com reverso variando entre cor branca, cinza, preta, marrom escura e laranja, enquanto os demais isolados produziram colônias com micélio branco e reverso variando entre branco e laranja.

O crescimento micelial foi significativamente maior para o isolado de Manaquiri-AM MQPD03, com ICM de  $19,29 \text{ mm.dia}^{-1}$  (Tabela 1). O isolado MQPD06 apresentou o menor ICM, com  $12,77 \text{ mm.dia}^{-1}$ . Não houve relação entre a procedência dos isolados e as características das colônias avaliadas, havendo variação nos caracteres entre indivíduos coletados na mesma localidade.

A variabilidade na coloração, topografia e no crescimento micelial das colônias de *Colletotrichum* também foi verificada por BONETT et al. (2010) e TOZZE JR. et al. (2006). Variações apresentadas pelas colônias do patógeno podem ser atribuídas ao genótipo de cada isolado, cuja expressão fenotípica está associada ao ambiente de cultivo, assim como a biossíntese de metabólitos secundários (BAILEY e JERGER, 1992, p.7)

Os isolados apresentaram conídios retos, hialinos, unicelulares, oblongos e com ápices arredondados. O comprimento médio dos conídios variou de 9,0 a 15,4  $\mu\text{m}$ , e a largura de 2,9 a 5,0  $\mu\text{m}$ . A relação comprimento largura variou entre 2,6 a 4,0  $\mu\text{m}$  (Tabela 1).

A morfometria dos apressórios revelou que 85% dos isolados apresentaram o formato arredondado. O formato levemente lobado foi observado em 50% dos isolados e o lobado foi observado em 15% dos isolados (Tabela 2).

O comprimento médio dos apressórios variou de 7,3 a 14,6  $\mu\text{m}$  e a largura média variou de 5,2 a 8,8 (Tabela 2). Foi observado que um mesmo isolado é capaz de apresentar tipos morfológicos distintos de apressórios.

A variabilidade na morfometria de conídios e apressórios de *Colletotrichum* é bem documentada, sendo um mesmo isolado capaz de apresentar tipos morfológicos distintos, o que dificulta a delimitação precisa entre espécies (TOZZE JR. et al., 2015).

Cinco isolados não produziram apressórios. Considerando que os isolados foram mantidos por repicagem periódicas, é possível que estes isolados tenham perdido a capacidade de formar apressórios em função deste método de preservação, que favorece a perda de características selvagens. As repicagens periódicas tendem a induzir o patógeno ao hábito saprofítico, à alteração

de sua morfologia, à diminuição ou perda de sua capacidade de esporular, à diminuição de sua agressividade e à perda de patogenicidade.

**Tabela 1.** Características morfológicas e culturais de colônias e conídios de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro coletados no Estado do Amazonas.

Isolados	Coloração da colônia		ICM <sup>1</sup> (mm)	Dimensões dos conídios (µm)		
	Verso	Reverso		Comprimento <sup>2</sup>	Largura <sup>2</sup>	Relação C/L <sup>3</sup>
IRPD03	cinza	laranja	18,37* ab	12,6 e (7,9-16,8)	3,3 g (2,1-4,3)	3,7 a (2,2-5,7)
IRPD04	cinza clara	laranja	16,55 abcde	14,9 a (10,9-18,7)	3,8 d (3,1-5,1)	3,9 a (3,0-5,0)
IRPD05	cinza escura	preta	16,98 abcde	12,0 e (9,4-15,7)	3,4 f (2,4-4,4)	3,5 b (2,7-5,2)
IRPD06	cinza clara	laranja	17,69 abc	14,2 b (10,3-26,7)	3,6 e (2,7-4,8)	3,8 a (2,6-6,7)
IRPD08	cinza clara	laranja	15,78 abcde	14,1 c (9,9-20,8)	3,8 d (2,9-4,6)	3,7 b (2,3-5,3)
IRPD09	cinza clara	laranja	16,91 abcde	13,5 d (10,6-23,6)	3,3 g (2,9-4,0)	4,0 a (2,7-5,9)
IRPD10	cinza clara	laranja	15,01 abcde	15,1 a (10,1-24,0)	3,9 d (2,9-4,9)	3,9 a (2,3-8,2)
IRPD18	cinza escura	laranja	15,85 abcde	13,6 c (11,0-15,9)	3,8 d (2,8-9,9)	3,7 b (1,3-5,0)
IRPD22	cinza	cinza	19,07 ab	13,1 d (10,5-16,2)	3,4 f (2,7-4,1)	3,8 a (3,0-4,6)
IRPD30	branca	branca	13,73 cde	14,2 b (10,9-16,8)	5,0 b (4,2-5,7)	2,8 a (2,1-3,5)
MQPD03	cinza	laranja	19,29 a	12,5 e (8,7-21,3)	3,4 f (2,3-4,7)	3,6 b (2,4-5,0)
MQPD06	cinza escura	preta	12,77 e	15,4 a (12,2-18,5)	4,7 c (3,1-8,0)	3,2 d (1,8-4,7)
MQPD07	cinza	laranja	17,43 abcd	12,9 e (7,9-14,9)	3,3 g (2,3-3,9)	3,9 a (2,7-5,5)
MQPD08	cinza clara	laranja	17,98 abc	13,2 d (8,4-16,3)	3,7 e (2,7-5,1)	3,6 b (2,2-5,4)
MQPD09	cinza clara	laranja	15,42 abcde	13,4 d (8,9-22,0)	3,8 d (3,0-5,1)	3,5 b (2,3-5,8)
MQPD10	cinza	laranja	16,98 abcde	12,7 e (9,5-16,9)	3,4 f (2,6-4,6)	3,6 b (2,8-4,7)
MQPD11	cinza clara	laranja	17,53 abcd	13,7 c (9,6-21,2)	3,4 f (2,6-4,3)	4,0 a (2,9-5,3)
MQPD14	cinza	laranja	14,66 bcde	14,1 c (6,8-21,6)	3,6 e (2,8-4,4)	3,9 a (2,4-5,9)
MQPD19	cinza	laranja	15,67 abcde	13,9 c (8,7-24,4)	3,8 d (2,9-4,3)	3,7 b (2,1-5,6)
MQPD25	cinza escura	cinza escura	15,92 abcde	14,1 c (11,7-18,9)	3,7 e (2,9-4,4)	3,8 a (2,6-5,1)
PFPD01	cinza	laranja	17,43 abcd	13,8 c (11,3-19,8)	3,7 e (2,2-5,6)	3,8 a (2,6-6,1)
PFPD03	cinza	laranja	16,38 abcde	10,9 f (6,5-15,5)	3,2 g (2,4-4,0)	3,4 c (2,2-4,5)
PFPD04	cinza clara	cinza	18,22 abc	13,5 d (8,0-24,9)	3,8 d (3,0-4,6)	3,6 b (2,2-7,0)
PFPD05	cinza escura	laranja	17,23 abcde	14,4 b (9,9-22,1)	3,7 e (2,3-4,7)	3,9 a (2,2-5,1)
PFPD08	cinza	laranja	17,47 abcd	14,4 b (10,1-28,4)	3,6 e (3,0-4,5)	3,9 a (2,7-7,0)
PFPD10	cinza clara	cinza clara	14,95 abcde	14,0 c (10,4-17,8)	3,6 e (2,7-4,6)	3,9 a (2,8-5,0)
PFPD11	cinza escura	cinza clara	18,20 abc	9,0 g (3,7-13,6)	2,9 i (1,9-4,5)	3,2 d (1,3-4,8)
PFPD16	cinza clara	preta	18,53 ab	13,7 c (10,6-21,2)	3,6 e (2,9-4,1)	3,8 a (2,6-5,3)
PFPD18	cinza	laranja	18,23 abc	11,8 e (8,7-14,5)	3,1 h (2,3-6,6)	3,8 a (2,0-5,0)
PFPD22	cinza clara	laranja	14,68 bcde	14,0 c (9,5-21,3)	3,9 d (2,9-5,2)	3,6 b (2,5-6,1)
REPD01	cinza clara	laranja	19,05 ab	13,0 d (10,8-17,3)	3,6 e (2,4-4,9)	3,7 b (2,8-4,5)
REPD02	cinza escura	preta	12,77 e	13,9 c (8,5-26,2)	3,7 e (2,3-5,2)	3,8 a (2,3-6,1)
REPD07	cinza	laranja	17,43 abcd	13,1 d (8,7-17,0)	3,6 e (3,0-4,2)	3,7 b (2,3-4,7)
REPD08	cinza clara	laranja	17,98 abc	15,2 a (11,5-19,6)	5,1 b (3,6-6,5)	3,1 d (1,9-4,9)
REPD09	cinza clara	laranja	15,42 abcde	14,5 b (10,1-22,0)	3,7 e (2,9-4,9)	3,9 a (2,4-5,8)
REPD10	cinza	laranja	16,98 abcde	13,8 c (10,3-16,7)	3,6 e (3,0-6,2)	3,9 a (2,3-5,2)
REPD11	cinza clara	laranja	17,53 abcd	12,4 e (8,6-15,1)	3,6 e (2,8-4,3)	3,4 c (2,0-4,4)
REPD12	cinza	laranja	14,66 bcde	13,8 c (8,5-17,6)	3,9 d (3,2-5,5)	3,6 b (2,1-4,6)
REPD14	cinza	laranja	15,67 abcde	14,4 b (11,9-17,8)	5,5 a (4,5-7,1)	2,6 e (1,9-3,3)
REPD15	cinza escura	cinza escura	15,92 abcde	13,1 d (3,8-17,3)	3,8 d (3,4-4,8)	3,5 b (1,0-5,0)
	C.V% <sup>4</sup>		9,75	15,40	11,84	16,72

<sup>1</sup>Índice de crescimento micelial (ICM), ao longo de 10 dias, dos isolados de *Colletotrichum* spp.

<sup>2</sup>Média de 50 conídios produzidos em BDA, aos 10 dias de cultivo a  $\pm 26$  °C sob luz contínua.

<sup>3</sup>Média de 50 valores da relação C/L, calculado pela divisão do comprimento pela largura de conídio de cada isolado.

<sup>4</sup>Coefficiente de Variação (C.V.%).

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

**Tabela 2.** Característica morfométrica de apressórios de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos de pimenta-de-cheiro coletados no Estado do Amazonas.

Isolados	Formato <sup>1</sup> (%)			Dimensões dos apressórios (µm)		
	Lobado	Lev. lobado	Arredondado	Comprimento <sup>2</sup>	Largura <sup>2</sup>	Relação C/L <sup>3</sup>
IRPD03	0	0	100	8,2* f (5,9-9,7)	6,1 f (5,1-7,1)	1,3 d (1,0-1,7)
IRPD04	0	0	100	7,7 g (5,3-12,2)	6,0 f (4,5-8,7)	1,2 e (0,9-2,3)
IRPD05	2	34	64	7,5 g (5,3-11,1)	5,5 g (3,9-7,3)	1,3 d (0,9-2,1)
IRPD06	0	10	90	9,9 d (6,9-17,5)	6,9 d (5,4-9,5)	1,4 c (1,0-3,1)
IRPD08	0	0	100	7,8 g (5,4-9,7)	5,8 f (4,6-7,3)	1,3 d (1,1-1,7)
IRPD09	2	14	84	10,8 c (4,3-15,6)	7,2 d (4,0-11,6)	1,5 c (0,8-2,3)
IRPD10	0	2	98	8,6 e (6,4-11,1)	6,1 f (5,1-7,2)	1,4 c (1,0-1,8)
IRPD18	0	0	100	7,4 g (5,2-9,1)	5,9 f (2,9-8,5)	1,2 e (1,0-1,7)
IRPD22	0	4	96	8,8 e (5,0-13,4)	6,2 e (3,7-8,3)	1,4 c (0,9-2,4)
IRPD30	0	2	98	8,2 f (6,1-10,5)	6,0 f (4,8-8,0)	1,3 d (1,0-1,8)
MQPD03	0	0	100	8,1 f (5,9-11,7)	6,5 e (4,9-11,3)	1,2 e (0,9-1,7)
MQPD06	30	70	0	14,6 a (6,5-35,2)	8,8 a (5,6-15,2)	1,7 a (0,4-4,3)
MQPD07		Nfa <sup>4</sup>			Nfa	
MQPD08	0	8	92	9,1 e (5,9-12,3)	6,7 e (4,6-8,7)	1,3 d (1,0-2,1)
MQPD09	0	4	96	9,1 e (5,5-12,6)	6,5 e (4,5-8,5)	1,4 c (0,9-2,1)
MQPD10	0	2	98	7,6 g (6,0-9,5)	6,1 f (4,2-9,8)	1,2 e (0,8-1,7)
MQPD11		Nfa			Nfa	
MQPD14	0	2	98	8,4 f (6,4-12,1)	6,3 e (4,6-7,4)	1,3 d (0,9-1,9)
MQPD19	0	0	100	8,8 e (6,0-11,1)	6,5 e (4,3-8,5)	1,3 d (0,9-2,0)
MQPD25	0	0	100	7,8 g (4,3-11,5)	6,7 e (4,1-8,2)	1,1 f (0,9-1,6)
PFPD01		Nfa			Nfa	
PFPD03	0	0	100	7,6 g (9,9-5,8)	5,7 g (7,0-4,7)	1,3 d (1,7-1,0)
PFPD04		Nfa			Nfa	
PFPD05	0	6	94	10,4 c (18,8-6,7)	7,5 c (12,2-5,0)	1,4 c (3,0-0,9)
PFPD08	0	2	98	8,9 e (16,8-6,1)	6,2 e (9,9-4,6)	1,4 c (2,3-0,9)
PFPD10	0	2	98	7,6 g (10,5-5,2)	5,5 g (6,8-2,2)	1,4 c (3,9-0,8)
PFPD11	0	0	100	8,0 f (11,9-6,3)	6,5 e (8,4-4,6)	1,2 e (1,6-1,0)
PFPD16	0	0	100	8,7 e (11,8-6,6)	6,5 e (8,7-5,2)	1,3 d (1,8-1,0)
PFPD18	0	4	96	9,8 d (13,6-7,1)	6,7 e (8,8-4,6)	1,4 c (2,3-1,0)
PFPD22	0	0	100	7,6 g (9,7-6,1)	5,7 g (6,8-4,6)	1,3 d (1,8-1,0)
REPD01	0	0	100	7,3 g (11,6-5,1)	5,2 g (7,0-4,1)	1,4 c (2,0-0,9)
REPD02	2	64	34	9,1 e (11,9-7,0)	8,0 b (12,5-5,8)	1,1 f (1,5-0,8)
REPD07	0	6	94	8,1 f (10,9-5,4)	5,6 g (6,8-4,6)	1,4 c (2,0-0,8)
REPD08	6	4	90	9,8 d (14,4-6,1)	7,6 c (14,6-4,7)	1,3 d (2,3-0,7)
REPD09	0	0	100	9,4 d (16,0-6,1)	7,0 d (10,1-5,1)	1,3 d (2,0-0,8)
REPD10	0	0	100	7,8 g (10,1-5,9)	5,8 f (7,3-4,4)	1,3 d (1,7-1,0)
REPD11	0	2	98	8,7 e (11,8-6,6)	6,1 f (8,3-4,2)	1,4 c (1,7-1,1)
REPD12		Nfa			Nfa	
REPD14	18	36	46	12,0 b (17,8-7,0)	7,8 c (10,3-4,4)	1,6 b (2,7-0,7)
REPD15	0	0	100	9,7 d (15,4-5,1)	6,7 e (8,8-4,6)	1,4 c (2,3-1,0)
	C.V% <sup>5</sup>			18,56	15,72	18,77

<sup>1</sup>Distribuição da frequência de formatos de apressórios.

<sup>2</sup>Média de 50 apressórios produzidos pelo método de microcultura, aos 10 dias de cultivo a  $\pm 26$  °C sob luz contínua.

<sup>3</sup>Média de 50 valores da relação C/L, calculado pela divisão do comprimento pela largura de apressório de cada isolado.

<sup>4</sup>Não formou apressórios (Nfa).

<sup>5</sup>Coefficiente de variação (C.V.%).

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

## Caracterização molecular

O número de bandas amplificadas por oligonucleotídeos arbitrários foi de 17 para o GACA<sub>4</sub> e 18 para o GTG<sub>5</sub>. O oligonucleotídeo arbitrário M13 não amplificou bandas. Foram analisados 35 fragmentos polimórficos, de peso molecular variando entre 150 a 1500pb.

O oligonucleotídeo arbitrário GACA<sub>4</sub> gerou o menor número de bandas polimórficas, formando três grupos. O primeiro agrupamento compreendeu 70,58% dos isolados com mesmo perfil de bandas e foi formado por 24 dos 34 isolados avaliados (REPD01, REPD10, REPD07, IRPD03, IRPD04, IRPD05, IRPD06, IRPD08, IRPD09, IRPD10, IRPD18, IRPD22, IRPD28, IRPD30, PFPD03, PFPD04, PFPD08, PFPD10, PFPD16, PFPD18, PFPD22, MQPD03, MQPD14 e MQPD19). O segundo agrupamento foi formado por 23,52% dos isolados (REPD11, REPD12, MQPD06, MQPD08, MQPD09, MQPD11, MQPD10 e MQPD25). Os isolados REPD02 e REPD09 formaram um terceiro agrupamento.

O oligonucleotídeo arbitrário GTG<sub>5</sub> propiciou o maior número de bandas polimórficas e dividiu os isolados em quatro grupos distintos, sendo o grupo I formado por 61,76% dos isolados (PFPD08, PFPD10, PFPD03, PFPD04, PFPD16, PFPD22, PFPD18, IRPD03, IRPD04, IRPD05, IRPD06, IRPD08, IRPD09, IRPD10, IRPD18, IRPD22, MQPD03, MQPD14, MQPD19, REPD07 e REPD09). O grupo II foi formado por 17,64% dos isolados (REPD01, REPD02, REPD10, REPD11, REPD12 e MQPD06). Cinco isolados procedentes de Manaquiri (MQPD08, MQPD09, MQPD11, MQPD10 e MQPD25) formaram o grupo III e dois isolados de Iranduba (IRPD30 e IRPD28) o grupo IV.

A análise de agrupamento, com base no dendograma produzido (Figura 1), revelou a existência de sete grupos (I, II, III, IV, V, VI e VII). O grupo I foi formado pelo isolado REPD02 e o grupo II pelo isolado REPD09, ambos procedentes de Itacoatiara. O grupo III foi formado por três isolados de Iranduba (IRPD03, IRPD18 e IRPD05). Um isolado de Manaquiri (MQPD14) formou o grupo IV. O grupo V foi formado por sete isolados (IRPD30, IRPD28, IRPD09, MQPD03, MQPD19, PFPD04 e PFPD03). O grupo VI apresentou dois subgrupos: A (IRPD22, IRPD06, IRPD10, PFPD22, PFPD10, PFPD18, PFPD08 e PFPD16) e B (MQPD06, MQPD08, MQPD11, MQPD10, MQPD09 e MQPD25). O grupo VII também apresentou dois subgrupos. Sendo no A inseridos três isolados (IRPD08, IRPD04 e REPD07) e quatro isolados no subgrupo B (REPD11, REPD12, REPD01 e REPD10).

Estes resultados apontam para a possibilidade de existir um complexo de espécies associadas à antracnose em pimenta-de-cheiro no Amazonas, concordando com os estudos de SILVA et al. (2017) onde, com base no sequenciamento e análise multilocus de regiões parciais dos genes ACT, CAL, GAPDH,  $\beta$ -TUB e ITS rDNA, identificou cinco espécies de *Colletotrichum* (*C. scovillei*, *C. truncatum*, *C. brevisporum*, *C. siamense*, *C. tropicale*) associadas à lesões de antracnose em frutos de *Capsicum* spp. no Nordeste do Brasil.

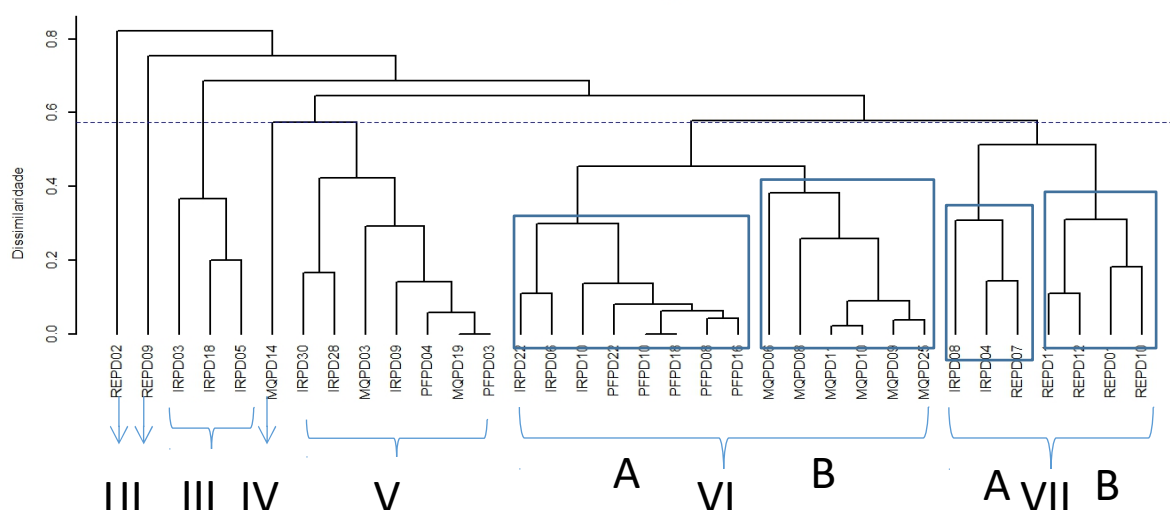
A análise da genotipagem dos isolados de *Colletotrichum* spp., obtidos de pimenta-de-cheiro, pela técnica Ap-PCR permitiu evidenciar grande variabilidade genética, assim como já



reportado por outros autores em estudos de diversidade genética de *Colletotrichum* em hospedeiros distintos (ANDERSON et al., 2013; SHARMA e KULSHRESTHA, 2015; TOZZE JR. et al., 2015).

Nos isolados provenientes de Iranduba foi observado maior variabilidade, demonstrado pela presença dos isolados em diferentes dos grupos e com maiores distâncias genética. Este resultado pode ser devido à maior quantidade de isolados analisados desta procedência, evidenciando maior número de *loci* polimórficos ou ainda pela ocorrência de fluxo gênico. SANTOS et al. (2015), estudaram a diversidade genotípica e patogênica de *C. musae*, observaram que os índices de diversidade genotípica indicaram a ocorrência de fluxo gênico, provavelmente, devido ao fungo ser transportado via material de propagação e não haver fiscalização sanitária entre regiões.

Os isolados de Presidente Figueiredo apresentaram menor variabilidade. A variabilidade genética observada entre os isolados pode ser decorrente ainda de diversos mecanismos geradores de variabilidade em fungos mitospóricos, como mutação e recombinação parassexual que podem ocorrer em condições naturais (1).



**Figura 1.** Dendrograma gerado pela análise de agrupamento UPGMA. A linha pontilhada representa o nível de fusão entre os grupos, estimada pelo método MOJEMA (1997). A escala à esquerda informa o valor de dissimilaridade. Os números romanos indicam os grupos formados e as letras maiúsculas os subgrupos.

### Caracterização patogênica

Isolados do fungo apresentaram comportamento diferenciado em função da hospedeira inoculada. Sintomas típicos de antracnose foram observados aos três dias após a inoculação. Inicialmente foram observados pequenos pontos de coloração marrom, evoluindo para manchas pretas, com halo de tecido aquoso, diferente da coloração observada no restante do tecido sintomático. Posteriormente, as lesões apresentaram pequenas pontuações (acérvulos) com a presença de massas de esporos de coloração alaranjada.

Em frutos de pimenta-de-cheiro a incidência da doença foi de 55 a 95%, severidade variando de 22 a 39,60%. O diâmetro médio de lesões ficou na faixa de 7,30 a 25,48 mm, e o nível de

infecção variou entre alta e muita alta. Nos frutos de pimenta murupi apenas os isolados IRPD03, PFPD22, REPD07, MQPD03 e MQPD08 foram patogênicos e apresentaram incidência de 20%, com severidade entre 6 a 16,60%, diâmetro médio de lesões variando de 0,50 a 1,32 mm e níveis de infecção variando entre baixa, média e alta (Tabela 3).

Nos frutos de pimentão, dois isolados (IRPD03 e REPD01) não foram patogênicos. Os demais isolados apresentaram incidência variando de 85 a 100%, com severidade na faixa de 22,40 a 42,40%, diâmetro médio de lesões variando de 9,79 a 40,22 mm, os isolados foram classificados nos níveis de infecção baixa, alta e muito alta. Os isolados PFPD08, REPD01, REPD02, REPD10 e REPD11 não foram patogênicos quando inoculados em frutos de pimenta dedo-de-moça. Os demais isolados apresentaram incidência variando de 80 a 90%, severidade variando de 22,80 a 32%, diâmetro médio de lesões entre 3,48 a 10,48 mm e níveis de infecção variando de baixa, alta e muito alta (Tabela 3).

Essas variações no diâmetro médio de lesões, severidade e incidência são explicadas por FREEMAN et al. (1998) ao relatarem a ocorrência de alto grau de variabilidade genética do *C. gloeosporioides* o que determina diferenças comportamentais quanto a agressividade.

O isolado REPD01 só foi patogênico quando inoculado no seu hospedeiro de origem, não sendo capaz de infectar outros frutos, corroborando com os estudos de BONETT et al. (2010), os quais confirmaram o potencial de infecção cruzada de alguns isolados de *C. gloeosporioides* e identificaram a presença de hospedeiros específicos.

Fatores intrínsecos às espécies de *Capsicum* como: estágio de maturação e a presença de genes que conferem resistência à antracnose, podem ter colaborado para a grande variabilidade encontrada. Reações diferenciais influenciadas pelo estágio de desenvolvimento dos frutos de *Capsicum* spp. inoculados com diferentes espécies de *Colletotrichum* foi observado por SILVA et al. (2014). Estudo realizado por MAHASUK et al. (2009b), mostraram que genes de resistência distintos controlam a resistência à antracnose em frutos imaturos e maduros de *Capsicum*.

**Tabela 3.** Severidade (%), incidência (%), diâmetro médio de lesões (mm) e níveis de infecção dos isolados de *Colletotrichum* spp. inoculados em quatro genótipos de *Capsicum*.

Isolados	Hospedeiras															
	Pimenta-de-cheiro				Murupi				Pimentão				Dedo-de-moça			
	SEV <sup>1</sup>	INC <sup>2</sup>	DML <sup>3</sup>	NI <sup>4</sup>	SEV	INC	DML	NI	SEV	INC	DML	NI	SEV	INC	DML	NI
IRPD03	32,40 a <sup>1</sup>	90,00 a	25,20 a	MA	15,60 a	20,00 a	0,65 a	A	0,00 c	0,00 b	0,00 m	B	23,60 a	80,00 a	3,52 f	A
IRPD04	26,00 b	95,00 a	7,40 l	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	37,20 a	95,00 a	31,26 d	MA	29,60 a	85,00 a	5,86 e	MA
IRPD06	22,00 b	85,00 a	7,30 l	A	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	28,40 b	90,00 a	11,04 j	MA	23,60 a	85,00 a	3,48 f	A
IRPD10	29,20 a	90,00 a	8,44 j	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	26,40 b	85,00 a	10,50 j	MA	30,40 a	90,00 a	6,44 d	MA
IRPD18	31,60 a	90,00 a	13,48 f	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	38,80 a	95,00 a	32,26 d	MA	25,60 a	90,00 a	5,68 e	MA
PFPD03	39,60 a	100,00 a	15,96 e	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	34,80 a	90,00 a	10,66 j	MA	26,40 a	85,00 a	5,42 e	MA
PFPD04	32,80 a	95,00 a	12,56 g	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	22,40 b	85,00 a	9,72 l	A	25,60 a	80,00 a	6,92 d	MA
PFPD08	24,40 b	90,00 a	11,00 h	A	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	42,00 a	100,00 a	33,12 c	MA	0,00 b	0,00 b	0,00 g	B
PFPD10	35,60 a	100,00 a	25,48 a	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	39,20 a	95,00 a	34,14 c	MA	32,00 a	90,00 a	10,48 a	MA
PFPD22	35,20 a	85,00 a	20,54 c	MA	7,60 a	20,00 a	1,05 a	M	40,40 a	100,00 a	28,48 e	MA	25,20 a	80,00 a	7,58 c	MA
REPD01	29,60 a	85,00 a	12,72 g	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	0,00 c	0,00 b	0,00 m	B	0,00 b	0,00 b	0,00 g	B
REPD02	26,80 b	80,00 a	9,54 i	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	30,40 b	90,00 a	15,42 i	MA	0,00 b	0,00 b	0,00 g	B
REPD07	32,00 a	75,00 a	13,58 f	MA	7,60 a	0,00 b	0,00 b	M	41,60 a	95,00 a	25,48 f	MA	26,40 a	0,00 b	0,00 g	MA
REPD10	24,00 b	90,00 a	12,54 g	A	0,00 a	20,00 a	1,32 a	B	32,00 a	100,00 a	40,22 a	MA	0,00 b	80,00 a	7,58 c	B
REPD11	30,00 a	65,00 a	11,60 g	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	35,20 a	90,00 a	21,06 h	MA	0,00 b	0,00 b	0,00 g	B
MQPD03	22,00 b	90,00 a	10,50 h	A	7,20 a	20,00 a	0,50 a	M	30,00 b	90,00 a	23,76 g	MA	25,20 a	90,00 a	8,70 b	MA
MQPD08	22,00 b	75,00 a	7,44 l	A	6,00 a	20,00 a	0,94 a	M	22,40 b	85,00 a	9,70 l	A	24,80 a	85,00 a	7,54 c	A
MQPD09	38,80 a	75,00 a	22,46 b	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	42,40 a	100,00 a	37,24 b	MA	25,20 a	80,00 a	6,40 d	MA
MQPD14	28,40 b	65,00 a	15,96 e	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	38,80 a	95,00 a	25,16 f	MA	22,80 a	85,00 a	5,42 e	A
MQPD19	30,80 a	85,00 a	18,42 d	MA	0,00 a	0,00 b	0,00 b	B	34,80 a	85,00 a	32,32 d	MA	26,00 a	85,00 a	5,76 e	MA

<sup>1</sup>SEV = Severidade; <sup>2</sup>INC = Incidência; <sup>3</sup>DML = Diâmetro médio de lesões; <sup>4</sup>NI = Níveis de Infecção: Baixa (B) 0 <SEV ≤ 5; Média (M) 5 <SEV ≤ 15; Alta (A) 15 <SEV ≤ 25; Muito Alta (MA) SEV > 25.

\*Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

## Conclusão

Os resultados da caracterização morfofocultural, patogênica e molecular, utilizando os *primers* arbitrários GACA<sub>4</sub> e GTG<sub>5</sub>, revelaram a existência de uma ampla diversidade fenotípica, patogênica e genética dentro e entre os isolados, indicando a existência de um complexo de espécies de *Colletotrichum* associados à antracnose da pimenta-de-cheiro no Estado do Amazonas, o que dificulta a identificação morfológica do agente etiológico e a adoção ou desenvolvimento de medidas de controle de natureza química, cultural e genética.

## Agradecimento

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro que possibilitou a realização desta pesquisa.

## Referências bibliográficas

PINHO, D.B.; MACHADO, A.R.; FIRMINO, A.L. Princípios e métodos para identificação molecular de fungos. In: Alfenas, AC, Mafia, RG. (Eds). **Métodos em Fitopatologia**. 2 ed., UFV, Viçosa-MG. 2016, pp.389-422.

ALMEIDA, L.B de, **Diversidade e identificação molecular de isolados de *Colletotrichum* associados ao gênero *Capsicum* no Amazonas**. 2015. 55f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Manaus.

ALMEIDA, L.B.; MATOS, K.S.; ASSIS, L.A.G; HANADA, R.E. First reproto of anthracnose of *Capsicum chinense* in Brazil cause by *Colletotrichum brevisporum*. **Plant disease**. v. 101, p. 1035, 2017.

ANDERSON, J.M.; AITKEN, E.A.B.; DANN, E.K.; COATES, L.M. Morphological and molecular diversity of *Colletotrichum* spp. causing pepper spot and anthracnose of lychee (*Litchi chinensis*) in Australia. **Plant Pathology**, v.62, p.279-288, 2013.

BAILEY, J.A.; JEGER, J.M. ***Colletotrichum: Biology, Pathology and Control***. Oxford: British Society for Plant Pathology, 1992. 388p.

BENTES, J.L.S.; COSTA NETO, P.Q. Variabilidade genética de *Colletotrichum guaranicola* usando marcadores AFLP. **Acta Amazônia**, v.41, n.2, p.251-256, 2011.

BONETT, L.P.; ALMEIDA, M.; GONÇALVES, R.G.A.; AQUINO, T.F.; WENZEL, J.B. Caracterização morfofocultural e infecção cruzada de *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da antracnose de frutos e hortaliças em pós-colheita. **Ambiência**, v.6, n.3, p.451-463. 2010.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.42, p.225-226, 1939.

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

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; BERNI, R.F. A antracnose da pimenta-de-cheiro. **Embrapa Amazônia Ocidental**. Comunicado Técnico nº 104, p.1-3. Manaus, 2014.

MAHASUK, P.; KHUMPENG, N.; WASEE, S.; TAYLOR, P.W.J.; Mongkolporn, O. Inheritance of resistance to anthracnose (*Colletotrichum capsici*) at seedling and fruiting stages in chili pepper (*Capsicum* spp.). **Plant Breeding**, v.128, p.701-706, 2009a.

MAHASUK, P.; TAYLOR, P.W.J.E.O.; Mongkolporn, O. Identification of Two New Genes Conferring Resistance to *Colletotrichum acutatum* in *Capsicum baccatum*. **Phytopathology**, n.99, p.1100-1104, 2009b.

MCKINNEY, H.H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.26, p.195-217, 1923.

MUNSELL COLOR COMPANY. **Munsell soil color charts**. Baltimore, 1975. 13p.

NEI, M.; LI, W. **Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases**. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1979.

PEREIRA, W.V. **Caracterização e identificação molecular de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose da goiaba no estado de São Paulo**. 2009. 79f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ. Piracicaba, São Paulo.

RAEDER, U.; BRODA, P. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. **Letters Applied Microbiology**, v.1, p.17-20, 1985.

REIS, A.; BOITEUX, L.S.; HENZ, G.P. Antracnose em hortaliça da família Solanaceae. **Embrapa Hortaliças**. Circular Técnica nº 79, p. 1-9, 2009.

SALGADO, A.P.S.P.; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; SOUZA, J.A.; ABREU, C.M.P.; PINTO, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolares sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, p.249-254, 2003.

SANTOS, P.C. DAS M.; LIMA, W.G.; BEZERRA, C.DE S.; MICHEREFF, S.J.; CÂMARA, M.P.S. Diversidade genotípica de *Colletotrichum musae* no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n.2, p.355-366, 2015.

SHARMA, M.; KULSHRESTHA, S. *Colletotrichum gloeosporioides*: an anthracnose causing pathogen of fruits and vegetables. **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v.12, n.2, p.1233-1246, 2015

SILVA, F.DE A.S.; AZEVEDO, C.A.V.de. Principal components analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, 2009.

SILVA, S.A.M.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L.S.A.; SUDRÉ, C.P.; BENTO, C.S.; CARMO, M.G.F.; MEDEIROS, A.M. Resistance in *Capsicum* spp. to anthracnose affected by diferente stages of fruit development during pre-and pos-harvest. **Tropical Plant Pathology**, v.39, n.4, p.335-341, 2014.

SILVA, J.R.A.; CHAVES, T.P.; DA SILVA, A.R.G.; BARBOSA, L.F.; COSTA, J.F.O.; Ramos-Sobrinho, R.; Teixeira, R.R.O.; Silva, S.J.C.; Lima, G.S.A.; Assunção, I. P. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v.42, p. 315-319, 2017.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey, J. A.; Jeger, M. J. ***Colletotrichum: Biology, Pathology and Control***. Wallingford: Redwood, 1992, 388p.

TORRES-CALZADA, C.; TAPIA-TUSSELL, R.; HIGUERA-CIAPARA, I.; PEREZ-BRITO, D. Morphological, pathological and genetic diversity of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose in papaya (*Carica papaya* L.). ***Plant Pathology***, v.135, p.67-69, 2011.

TOZZE JÚNIOR, H.J.; MELLO, B.A.; MASSOLA JÚNIOR, N.S. Morphological and physiological characterization of *Colletotrichum* sp. isolates from solanaceous crops. ***Summa Phytopathologica***, v.32, n.1, p.71-79, 2006.

TOZZE JÚNIOR, H.J.; FIRMINO, A.C.; FISCHER, I.H.; FURTADO, E.L.; MASSOLA JÚNIOR, N.S. Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados às frutíferas no Estado de São Paulo. ***Summa Phytopathologica***, v.41, n.4, p.270-280, 2015.

Recebido em 17/09/2018

Aceito em 09/10/2018