

PAULO CÉZAR DAS MERCÊS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Colletotrichum musae*
NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

**RECIFE – PE
FEVEREIRO – 2011**

PAULO CÉZAR DAS MERCÊS SANTOS

**CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Colletotrichum musae*
NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

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

**RECIFE – PE
FEVEREIRO – 2011**

Ficha Catalográfica

S237c Santos, Paulo César das Mercês
Caracterização de isolados de *Colletotrichum musae* no
Estado de Pernambuco / Paulo César das Mercês
Santos. -- 2011.
97 f. : il.

Orientador: Marcos Paz Saraiva Câmara.
Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia,
Recife, 2011.
Referências.

1. Antracnose 2. Morfologia 3. *Musa* ssp. 4. Pós-colheita
5. Taxa de crescimento micelial 6. Testes bioquímicos I.
Câmara, Marcos Paz Saraiva, Orientador II. Título

CDD 582

**CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Colletotrichum musae* NO
ESTADO DE PERNAMBUCO**

PAULO CÉZAR DAS MERCÊS SANTOS

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof. Ph. D. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE) – Orientador

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE) – Coorientador

Prof. Dr. Ricardo Brainer Martins (UFAL) – Coorientador

**RECIFE – PE
FEVEREIRO – 2011**

**CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Colletotrichum musae* NO
ESTADO DE PERNAMBUCO**

PAULO CÉZAR DAS MERCÊS SANTOS

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em 17 de fevereiro de 2011.

ORIENTADOR:

Prof. Ph. D. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof.^a Dr.^a Sônia Maria Alves de Oliveira (UFRPE)

Prof. Dr. Cristiano Souza Lima (UFRPE)

Pesq. Dr. Rildo Sartori Barbosa Coêlho (IPA)

**RECIFE – PE
FEVEREIRO – 2011**

A Deus, pelo dom da vida.

AGRADEÇO

Aos meus pais, Edmilson Santos e Maria do Socorro, em especial, pelos ensinamentos, dedicação e amor verdadeiro.

Aos meus irmãos, Sílvia, Silvana, Elison e Ricardo e aos meus amados sobrinhos, pela amizade, confiança e a constante presença em todas as etapas da minha vida.

DEDICO

Aos meus avôs (*in memoriam*), à minha avó Cândida Santa Brígida, aos meus tios, em especial, tia Eduarda e, primos, pela amizade, apoio e palavras de incentivo.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela paz de espírito, sabedoria e perseverança na superação das dificuldades da vida;

Aos professores do curso de mestrado, em especial, Sami Michereff, Sônia Oliveira, Rosa Mariano e Elineide Silveira pelos ensinamentos repassados;

Ao professor Marcos Câmara pela amizade, orientação e compreensão;

Aos membros da banca examinadora pelas valiosas sugestões;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo apoio institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos;

A todos os membros da equipe do Laboratório de Micologia da UFRPE, Waléria Lima, Maria “Lila” Xavier Filha, Nelson Lima, Marília Marques, Amanda Gonçalves e Marcelo Silva, pela atenção, paciência e amizade;

Aos meus colegas discentes do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pelos momentos de interação, em especial, a Leilson Silva, Francisco Rabelo Filho, Maruzanete Melo e Cristiane da Silva;

À Professora Adélia dos Santos e ao Professor Sérgio Tabosa (*in memoriam*) que me conduziram inicialmente no caminho da Fitopatologia e pela amizade;

Aos professores da Ufra, Pedro Gazel Teixeira, Rosângela Viggiano Marques, Heliana Brasil, Maria Marly Santos, Geraldo Coqueiro, Israel dos Santos Raiol e Leila Sobral Sampaio, pela amizade e conhecimentos transmitidos;

Ao presidente da AEAPA (Associação dos Engenheiros Agrônomos do Estado do Pará), Dinaldo Rodrigues Trindade e ao 1º secretário Manoel Moura Melo, pela amizade e premiação concedida;

Aos funcionários Darcy Martins, Romildo Angeiras, Adelmo Santana, Roberto Silva “Bob”, Adriana Melo e Priscila Queiroz, pela amizade e atenção;

Aos alunos de graduação de Agronomia da UFRPE, Gisele França e Elizabeth Alexandre;

Aos meus amigos ufranianos, Renata Lima e Davi Teixeira, pela amizade e companheirismo na graduação;

À Adriano Gama, pela confecção do mapa das localidades de coleta;

À Luciana Marinho pela amizade verdadeira e apoio incondicional nos momentos mais difíceis;

Ao Seu Manoel Lourenço e D. Maria Silva pela hospitalidade e acolhimento nos meus momentos iniciais no Recife;

À Lílian Guimarães, Sandra Maranhão e ao Professor José Vargas (Entomologia Agrícola) pela cordialidade dispensada;

Aos meus amigos conterrâneos do meu amado município de Primavera-PA;

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vi
SUMÁRIO	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1 Importância da bananicultura	14
1.2 Origem, evolução, classificação botânica e distribuição geográfica da bananeira	15
1.3 Limitações para a cultura da bananeira	17
1.4 Doenças pós-colheita	18
1.5 Antracnose da banana	19
1.6 Gênero <i>Colletotrichum</i>	23
1.7 Caracterização da variabilidade de <i>Colletotrichum</i>	28
Referências Bibliográficas	36
CAPÍTULO II – Caracterização de isolados de <i>Colletotrichum musae</i>, agente causal da antracnose da banana, no Estado de Pernambuco, Brasil	57
RESUMO	58
INTRODUÇÃO	59
MATERIAL E MÉTODOS	61
RESULTADOS	68
DISCUSSÃO	72
AGRADECIMENTOS	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
CONCLUSÕES GERAIS	96

RESUMO GERAL

Do ponto de vista socioeconômico, a banana, uma das frutas mais consumidas, possui grande importância mundial. A produção brasileira dessa frutífera apresenta particular distribuição geográfica, já que está presente em todos os Estados da federação. No Estado de Pernambuco, a banana é cultivada em todas as microrregiões, ocupando cerca de 80 mil postos de trabalho permanente no campo, havendo dois pólos distintos de produção de banana: a Zona da Mata e o Vale do São Francisco. Dentre os fatores limitantes para esta cultura, destacam-se as doenças pós-colheita, como a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum musae*. Essa doença causa perdas significativas na produção, manifestando-se, principalmente, na fruta em estágio de maturação. Com a finalidade de verificar a diversidade desse fitopatógeno, isolados de *C. musae* provenientes de campos de produção de banana de três municípios (Vicência, São Vicente Férrer e Machados) do Estado de Pernambuco foram caracterizados quanto à taxa de crescimento micelial diária (TCMD), coloração da colônia, reverso da placa, topografia, presença de setores e de microescleródios, além da morfologia de conídios, testes bioquímicos, patogênicos e moleculares. Os 60 isolados, com base nos caracteres morfológicos de formato e tamanho de conídios, foram identificados como *C. musae*, com as seguidas medidas morfológicas 9,3-30,2 x 2,6-12,6 μm ($\bar{x} = 15,0 \times 4,9 \mu\text{m}$, $n = 6000$). A maioria dos isolados avaliados apresentaram conídios retos, oblongo, com ápices arredondados. Quanto à TCMD, todos os isolados apresentaram crescimento médio superior a 1,0 cm.dia^{-1} , variando de 1,21 a 1,63 cm.dia^{-1} . Foram encontrados três grupos marcantes de coloração de colônia: branca, creme e salmão, enquanto que a presença de setores variou de zero a oito por isolado. A maioria dos isolados (53) metabolizou o tartarato de amônio como fonte exclusiva de carbono, enquanto que para o ácido cítrico, todos os isolados, com exceção do isolado CMM 3219, não foram capazes de metabolizar essa fonte de carbono. A caracterização patogênica mostrou diferenças significativas para o parâmetro epidemiológico AACPD em frutas inoculadas com ferimento, indicando a existência de variação da agressividade entre os isolados. Para as frutas sem ferimentos e inoculadas, a AACPD não foi estimada para 20 isolados, pois não houve lesões. O dendrograma gerado pela análise de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) das bandas de DNA obtidas com a combinação dos três *primers* (GTG5, GACA e 820) por ISSR-PCR possibilitou a separação de três grupos de isolados a 62% pelo coeficiente de similaridade de Jaccard. O grupo I foi formado pelos isolados provenientes de Vicência; grupo II, isolados de

São Vicente Férrer e grupo III, de Machados. Os resultados sugerem que isolados de *C. musae* podem ser discriminados quanto à sua origem por apresentarem similaridade genética entre si. Os marcadores ISSR, nesse estudo, parecem ser ferramentas bastante úteis no estudo populacional de *C. musae*.

Palavras-chave: antracnose, morfologia, *Musa* spp., pós-colheita, taxa de crescimento micelial, testes bioquímicos.

ABSTRACT

From a socioeconomic perspective, the banana, one of the most consumed fruit, has great importance worldwide. The Brazilian production of this fruit presents particular geographic distribution, since it is present in all States of the federation. In the State of Pernambuco, the banana is grown in all the regions, occupying about 80000 permanent jobs in the field, with two distinct poles of banana production: the Zona da Mata and Vale do São Francisco. Among the limiting factors for this crop, there are the post-harvest diseases such as anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*. This disease causes significant losses in production, manifesting itself mainly in the fruit at maturity stage. In order to verify the diversity of this pathogen isolated from *C. musae* from banana production fields of three municipalities (Vicência, São Vicente Férrer and Machados) of the Pernambuco State were characterized for daily mycelial growth rate (DMGR), colony color, reverse plate, topography, presence of sectors and microsclerotia, conidial morphology, biochemical tests, pathogens and molecular. The 60 isolates, based on morphological characters of shape and size of conidia, were identified as *C. musae*, followed with morphological measurements from 9.3 to 30.2 x 2.6 to 12.6 μm (\bar{x} = 15.0 x 4.9 μm , n = 6000). Most isolates showed conidia straight, oblong, with rounded apices. As for the DMGR, all isolates showed growth averaged more than 1.0 $\text{cm}\cdot\text{day}^{-1}$, ranging from 1.21 to 1.63 $\text{cm}\cdot\text{day}^{-1}$. It was found three groups of striking color to the colonies: white, cream and salmon, while the presence of sectors ranging from zero to eight per isolate. Most isolates (53) metabolized the ammonium tartrate as the sole source of carbon, while for citric acid, all isolates except the isolate CMM 3219, were not able to metabolize this carbon source. The pathogenic characterization showed significant differences in the epidemiological parameter AUDPC in fruits inoculated with injury, indicating the existence of variation in aggressiveness among isolates. For fruit inoculated and no injuries, the AUDPC was not estimated for 20 isolates because there was no injury. The dendrogram generated by UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) cluster analysis of DNA bands obtained with the combination of three primers (GTG5, GACA and 820) by ISSR-PCR allowed the separation of three groups of isolates to 62% by Jaccard's similarity coefficient. The group I was composed of isolates from Vicência Group II isolates São Vicente Férrer and group III, Machados. The results suggest that isolates of *C. musae* can be discriminated as to their origin because they had genetic similarity between them. The ISSR markers in this study appear to be useful tools in the study of *C. musae*.

Keywords: anthracnose, morphology, *Musa* spp., postharvest, mycelial growth rate, biochemical tests

Capítulo I

Introdução Geral

INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Importância da bananicultura

A cultura da bananeira possui grande importância econômica e social e produz uma das frutas frescas de maior consumo no mundo, com o mais alto índice de consumo *per capita* entre as frutas tropicais (SOUZA; TORRES FILHO, 1999a). Esta espécie é cultivada em mais de 130 países e os maiores produtores são Filipinas, China, Equador, Brasil e Indonésia (FAO, 2011). O cultivo nacional dessa cultura ocupa o segundo lugar dentre as frutíferas cultivadas no Brasil, depois das frutas cítricas, com uma produção estimada em mais de 6.783.482 toneladas, área plantada ou destinada à colheita em torno de 483.562 hectares e área colhida de 479.614 hectares, gerando um rendimento médio de 14.144 kg/ha (LICHTENBERG, 1999; SILVA; CORDEIRO, 2000; IBGE, 2009).

A produção brasileira de banana é bastante particular no que se refere à sua distribuição espacial, uma vez que está presente em todos os Estados do Brasil. A essa cultura cabe papel fundamental como importante fonte de alimentação, principalmente das populações de baixa renda, em virtude do alto valor nutritivo e do baixo custo. É fixadora de mão de obra no meio rural e geradora de divisas para o país. De acordo com os dados do IBGE para o ano de 2009, o consumo nacional de banana alcançou 35,4 kg/ano *per capita*, superando todas as outras frutas, perdendo somente para a laranja. Esse quadro confirma a elevada demanda do mercado doméstico pelo produto (SOUZA; TORRES FILHO, 1999a; SOUZA; CONCEIÇÃO, 2002; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005; IBGE, 2009).

A fruta é consumida em sua quase totalidade na forma *in natura* e a boa aceitação da banana deve-se aos seus aspectos sensoriais e valor nutricional, constituindo-se em uma boa fonte energética (LICHTENBERG, 1999; MATSUURA; COSTA; FOLEGATTI, 2004). Segundo Dantas e Soares Filho (1997), uma banana supre aproximadamente 25% da vitamina C, apresenta concentrações consideráveis de vitaminas A e B (tiamina, riboflavina e niacina), alto teor de minerais, como o potássio e o fósforo, açúcares (carboidratos), além de conter pouco sódio (STOVER; SIMMONDS, 1987; LICHTENBERG, 1999).

Ademais, a ausência de suco na sua polpa, a ausência de sementes duras e a disponibilidade no mercado brasileiro e em diversos países do mundo durante o ano todo, contribuem fortemente para o seu alto consumo. A casca da banana constitui-se em uma

“embalagem” individual, de fácil remoção, higiênica e, portanto, prática e conveniente aos hábitos dos tempos atuais (LICHTEMBERG, 1999).

De acordo com dados do IBGE referente ao ano de 2009, a exploração econômica da bananicultura no Brasil está concentrada nas regiões Nordeste, Sudeste e Norte. Os principais Estados produtores de banana, naquele ano, em ordem decrescente foram São Paulo (1.257.539 t), Bahia (1.015.505 t), Santa Catarina (624.204 t), Minas Gerais (620.931 t), Pará (501.344 t), Pernambuco (437.155 t), Ceará (429.506 t) e Paraíba (267.468 t). Esses Estados são responsáveis por mais de 75% da produção do país (IBGE, 2011).

O Estado de Pernambuco ocupa a sexta posição no *ranking* da produção brasileira e em todas as mesorregiões geográficas do Estado ocorre o plantio da cultura da bananeira, ocupando cerca de 80 mil postos de trabalho permanentes no campo (LOPES et al., 2002; IBGE, 2011). Nesse Estado, há dois pólos distintos de produção de banana: a Zona da Mata, onde a cultura é tradicional e a mais importante lavoura no processo de diversificação econômica da produção agrícola; e o perímetro irrigado do Vale do São Francisco, especialmente a área do Submédio, onde está localizado o pólo de Petrolina, onde a bananicultura apresenta a maior expansão dessa cultura como atividade emergente (LOPES et al., 2002).

No Estado, as cultivares mais plantadas são “Pacovan” e “Prata Anã”, correspondendo, ambas, a cerca de 90% dos plantios existentes (SILVA JÚNIOR; COÊLHO; MICHEREFF, 2000), porém o grande mercado é para as cultivares exportáveis do subgrupo Cavendish, notadamente “Nanica” e “Nanicão”. O rendimento médio dessas cultivares tem-se situado em aproximadamente 30 t/ha, chegando a atingir 80 t/ha (NUNES; ALVES; OLIVEIRA, 2001).

Considerando as informações coletadas pelo IBGE no ano de 2009 para o Estado de Pernambuco, a mesorregião da Zona da Mata Pernambucana produziu cerca de 154.670 t, enquanto que as de São Francisco Pernambucano e Agreste obtiveram uma produção de 143.330 t e 106.471 t, respectivamente. Os municípios pernambucanos que mais se destacaram na produção de banana, em ordem decrescente, foram Santa Maria da Boa Vista, Vicência, Petrolina, São Vicente Férrer, Quipapá e Machados (IBGE, 2011).

1.2 Origem, evolução, classificação botânica e distribuição geográfica da bananeira

O continente asiático é o centro de origem primário de maior parte do germoplasma da bananeira (*Musa* spp.), embora haja outros centros secundários na África Oriental e em

algumas ilhas do Pacífico, além de contar com outro importante centro de diversidade localizado na África Ocidental e América Latina (CHEESMAN, 1947, 1948; MEDINA, 1985; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; NELSON; PLOETZ; KEPLER, 2006). A disseminação da bananeira para o continente africano ocorreu a cerca de 2500 anos atrás (MINDZIE et al., 2001) e, aproximadamente, 2000 anos para a Polinésia e região tropical da América do Sul (LANGDON, 1993).

Os genótipos encontrados nestas regiões evoluíram de espécies selvagens e apresentam três níveis cromossômicos distintos: diplóide ($2n$), triplóide ($3n$) e tetraplóide ($4n$), respectivamente com dois, três e quatro múltiplos do número básico de cromossomos ($n = 11$) (DODDS, 1943).

Na evolução das espécies de bananeiras que produzem frutas comestíveis, destacaram-se duas espécies diplóides selvagens: *M. acuminata* Colla (genoma AA) e *M. balbisiana* Colla (genoma BB) que através de cruzamentos interespecíficos deram origem à maioria dos genótipos de bananeiras atualmente utilizadas em cultivo e na alimentação (SIMMONDS, 1973; MEDINA, 1985; DANTAS; SOARES FILHO, 1997; DANTAS et al., 1999; ROBINSON; GALÁN-SAÚCO, 2010). Ultimamente, a classificação aceita em todo o mundo, adota os estudos desenvolvidos por Simmonds e Shepherd (1955) que indicam os seguintes grupos genômicos diplóides (AA, BB e AB); triplóides (AAA, AAB e ABB) e tetraplóides (AAAA, AAAB, AABB e ABBB).

De acordo com a sistemática botânica de classificação, as bananeiras produtoras de frutas comestíveis são plantas que pertencem ao domínio Eukaryota, reino Plantae, superdivisão Spermatophyta, divisão ou filo Magnoliophyta, classe Liliopsida (antiga Monocotyledoneae), subclasse Zingiberidae, ordem Zingiberales (Scitaminales), família Musaceae, subfamília Musoideae, que inclui o gênero *Musa* L., constituído por cinco séries ou seções: Australimusa, Callimusa, Rhodochlamys, (Eu-)Musa e Ingentimusa (última a ser definida). A seção (Eu-)Musa desse gênero é a mais importante, uma vez que agrupa o maior número de espécies e apresenta uma extensa distribuição geográfica, com maior número de espécies comestíveis (SIMMONDS, 1973; ARGENT, 1976; CRONQUIST, 1981; DANTAS et al., 1999; CHASE et al., 2000; PLOETZ et al., 2007).

Além do uso do termo grupos genômicos, que foram estabelecidos para denominar indivíduos originários das duas espécies, também foi aceito na sistemática a utilização do termo subgrupo, com a finalidade de denominar um complexo de cultivares originárias de mutações de uma única forma ancestral (SIMMONDS, 1973; STOVER; SIMMONDS, 1987; DANTAS et al., 1999). Condizente com essa sistematização botânica pode-se citar, tomando

em consideração o Brasil, a existência do grupo AAA, subgrupo Cavendish e do grupo AAB, subgrupos Prata e Terra (DANTAS et al., 1999).

A bananeira é uma planta tipicamente tropical. Essa espécie exige calor constante, elevada umidade e boa distribuição de chuvas para que ocorra um bom desenvolvimento da planta. As condições que a favorecem são registradas na faixa compreendida entre os paralelos de 30° de latitude Norte e Sul e nas regiões onde as temperaturas situam-se entre os limites de 10 a 40 °C (DANTAS et al., 1999). Devido à sua eficiente adaptabilidade, é cultivada em quase todos os países tropicais. No Brasil, o cultivo da bananeira é realizado sob diferentes condições edafoclimáticas, que vai desde a faixa litorânea até os planaltos interioranos, associado a vários níveis tecnológicos de produção (DANTAS; SOARES FILHO, 1997; DANTAS et al., 1999).

1.3 Limitações para a cultura da bananeira

Embora o Brasil e o Estado de Pernambuco sejam grandes produtores e consumidores, a bananicultura nacional enfrenta sérios problemas nas fases de produção e pós-colheita, que limitam a sua inserção no mercado internacional, devidos, basicamente ao elevado consumo interno e as perdas substanciais na fase de pós-colheita e de comercialização (SOUZA; TORRES FILHO, 1999b; MAIA et al., 2008).

Dentre os fatores limitantes dessa cultura, podemos incluir os fatores físicos (injúrias mecânicas), os fisiológicos (desordens ou distúrbios fisiológicos e doenças abióticas) e os microbiológicos (doenças bióticas), que estão aliados ao baixo nível tecnológico adotado nos pomares, a baixa qualidade da fruta produzida e a precária estrutura comercial (MAIA et al., 2008; SILVA et al., 2003; RANGEL; PENTEADO; TONET, 2002; CARDOSO, 2005). Essas limitações ocasionam uma estimativa de perdas que oscila entre 34 a 80% ao longo da cadeia produtiva (LICHTENBERG, 1999; SILVA, 2000; CORDEIRO, 2003; CORDEIRO; MATOS, 2005; ALMEIDA; SILVA, 2008), que, de acordo com Mascarenhas (1999), faz com que apenas uma parcela, entre 50 a 60% da produção, chegue à mesa do consumidor. Isso é reflexo das técnicas inadequadas de manejo durante a produção, colheita e pós-colheita (CARDOSO, 2005). Uma das causas de perdas na pós-colheita de frutas é a qualidade fitossanitária da mesma que envolve a ação tanto de insetos quanto de fitopatógenos (SILVA; CORDEIRO, 2000).

No fator microbiológico, inúmeros micro-organismos, como fungos, bactérias, nematoides e vírus, prejudicam o desenvolvimento da bananeira, afetando diversas partes da

planta. Entre esses micro-organismos merece destaque na pós-colheita, o fungo mitósporico *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A. Curtis) Arx (von ARX, 1957a), agente causal da antracnose da banana e que prejudica consideravelmente a comercialização e o consumo “*in natura*” dessa fruta (SILVA; CORDEIRO, 2000; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005; CORDEIRO; MATOS, 2005; PESSOA et al., 2007).

1.4 Doenças pós-colheita

As podridões em frutas frescas, hortaliças e flores, provenientes da atividade de fitopatógenos, ocasionam graves perdas nesses produtos agrícolas, principalmente quando esses são cultivados em locais distantes da área de consumo. No decorrer da fase denominada de pós-colheita, os produtos que não são manipulados adequadamente e/ou tratados com inibidores microbianos eficientes podem perder a sua qualidade devido à ação de doenças de origem biótica e abiótica, por distúrbios de transpiração e pela senescência (DHINGRA, 1985; MARI; GUIZZARDI, 1998).

De acordo com Kader (2002), a redução das perdas em pós-colheita na cadeia produtiva de produtos agrícolas, especialmente, das frutas, representa um constante desafio para a produção, comercialização e consumo, uma vez que as frutas apresentam um alto teor de água e de nutrientes e, mesmo depois da colheita até o período final de senescência, mantêm vários processos biológicos em plena atividade e, conseqüentemente, tornam-se mais predispostas a distúrbios fisiológicos, danos mecânicos, ocorrência de podridões, entre outras patologias.

A ocorrência de fitopatógenos causadores de doenças após a colheita é um dos problemas que prejudica a qualidade e que tem limitado a exportação de frutas brasileiras, inviabilizando o transporte por períodos mais longos, assim como a aceitação do produto no seu destino final (PRUSKY; PLUMBLEY, 1992; PERES, 1998).

Para Barkai-Golan (2001) e Martins et al. (2007), as doenças pós-colheita podem ser divididas em duas categorias, de acordo com penetração do fitopatógeno no hospedeiro: (i) as típicas, ocasionadas por fitopatógenos que penetram e infectam a fruta durante e após a colheita, frequentemente, por ferimentos; e, (ii) as quiescentes, ocasionadas por fitopatógenos que penetram e infectam a fruta antes da colheita, mesmo na ausência de ferimentos. Esses fitopatógenos penetram nos hospedeiros ainda no campo, permanecendo latentes até o processo de maturação fisiológica. Nesse caso, a doença somente externa-se após a colheita, durante o armazenamento e/ou comercialização.

Os fungos estão relacionados como os principais causadores de doenças pós-colheita em frutas. Isso ocorre, em consequência do amplo número de espécies fúngicas envolvidas, da grande diversidade genética desses agentes fitopatogênicos, que inclui *formae speciales*, raças e biótipos e, dos eficientes mecanismos de penetração (SNOWDON, 1990). Os fungos são responsáveis por cerca de 80 a 90% do total de perdas causadas por fitopatógenos (GULLINO, 1994). No caso da banana, várias podridões de natureza fúngica podem ocorrer na fase de pós-colheita, como a podridão-da-coroa e a antracnose, sendo essa última, a principal doença (CORDEIRO; MATOS, 2000).

Moraes, Zambolim e Lima (2006), analisando a frequência de fungos em banana cv. “Prata Anã” proveniente do norte de Minas Gerais, observaram que as espécies *C. musae* (Berk. & M.A. Curtis) Arx, *C. acutatum* J.H. Simmonds, *Cladosporium musae* E.W. Mason, *Fusarium equisetii* (Corda) Sacc., *Penicillium* sp. e *Alternaria* sp. foram as mais frequentes, tanto em frutas verdes como em maduras. Nesse mesmo trabalho, os autores também constataram que *C. musae* é o agente primário das podridões das frutas examinadas com 100% de incidência.

Pereira et al. (2010), com o objetivo de verificar a frequência de fungos em bananas comercializadas na feira livre da cidade de Pombal (PB), detectaram que nas bananas avaliadas, estas apresentaram elevada frequência de fungos fitopatogênicos. *Colletotrichum* sp. e *Rhizopus* sp. foram os fungos mais presentes para as três cultivares estudadas (Prata, Maçã e Nanica).

Os resultados obtidos, nos dois trabalhos anteriormente citados, confirmam a importância econômica das doenças pós-colheita nessa cultura, uma vez que a presença e o aparecimento desses micro-organismos desqualificam a fruta para comercialização pela simples presença dos sintomas, independente da intensidade dos mesmos (CAPPELLINI; CEPONIS, 1984; GULLINO, 1994).

1.5 Antracnose da banana

A antracnose representa o mais grave problema na pós-colheita de banana e encontra-se amplamente distribuída em todas as regiões produtoras dessa fruta no mundo (WARDLAW, 1972; CORDEIRO; MATOS, 2000). Essa doença causa perdas significativas na produção, manifestando-se, principalmente, na fruta já madura. Embora a doença manifeste-se durante esse período, o problema tem início no campo, ocasião em que os conídios dispersos no ar são depositados sobre as frutas, germinam, formam os apressórios e,

consequentemente, penetram nas mesmas (CORDEIRO; MATOS, 2000; VENTURA; HINZ, 2002; CORDEIRO; MATOS; MEISSNER FILHO, 2004). Segundo Wardlaw (1972), essa doença também é conhecida como podridão negra ou podridão das frutas maduras.

O fungo geralmente infecta as frutas ainda verdes no campo (pré-colheita) e as infecções permanecem quiescentes até que estas entrem no início do processo de amadurecimento (GOOS; TSCHIRSCH, 1962). No estágio fisiológico de fruta verde, normalmente não há o desenvolvimento de sintomas, somente ocorre sintomas em frutas verdes quando essas são demasiadamente feridas (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003).

Na pós-colheita, a infecção vai se manifestar durante o período de transporte e maturação das frutas e ocasionar outras infecções, caracterizando a fase de infecção não-quiescente. Com o amadurecimento natural ou induzido das frutas, lesões escuras desenvolvem-se progressivamente tornando-se deprimidas sobre as quais em condições de alta umidade, aparecem frutificações alaranjadas do fungo. Com o progresso da doença, as lesões aumentam de tamanho, podendo coalescer, formando grandes áreas necróticas (ABAYASEKARA; RATNAYAKE; ADIKARAM, 1998; CORDEIRO; MATOS, 2000; SPONHOLZ et al., 2004; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005; CORDEIRO; MATOS, 2005).

As espécies de *Colletotrichum* ou *Glomerella* são os mais importantes fitopatógenos que causam este tipo de infecção (JEFFRIES et al., 1990; BAILEY; JEGER, 1992). Duas formas distintas da doença são observadas: a antracnose de frutas maduras, originária de infecção latente da casca verde e que permanece dormente até o início da maturação; e, a antracnose não latente, produzida pela invasão do fitopatógeno em ferimentos ocorridos sobre frutas verdes que estão em trânsito (CORDEIRO; MATOS, 2000).

O agente etiológico dessa doença é fungo mitospórico *C. musae*, porém este agente causal assemelha-se em muitos aspectos a *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., responsável pela maioria das antracnoses em outras frutas na fase de pós-colheita (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003). O teleomorfo de *C. musae* ainda é motivo de questionamento na literatura, entretanto Petch (1917) o descreveu como *Glomerella musarum* Petch.

Wardlaw (1935) encontrou peritécios em amostras e os identificou como pertencente a *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld. & H. Schrenk. Sutton (1992) indicou que existe dúvidas se, realmente, algumas formas sexuadas definidas para o gênero *Colletotrichum* pertencem ao gênero *Glomerella*. Tomando por base, essa indefinição na posição taxonômica, a espécie *G. musarum*, como descrita por Petch, em 1917, pode não ser de fato o teleomorfo

de *C. musae* (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003). Rodriguez e Owen (1992) produziram em condições laboratoriais, a forma sexuada de *C. musae*, usando o epíteto *G. musae*, embora nenhuma descrição formal e científica fora realizada.

A espécie *C. gloeosporioides* (*G. cingulata*) pode ser recuperada a partir de bananas em decomposição, porém *C. musae* é mais adaptada e predomina como agente etiológico da antracnose nesta fruta (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003).

A espécie *C. musae* foi primeiramente classificada como *Myxosporium musae* Berk. & M.A. Curtis (BERKELEY, 1874), sendo posteriormente transferida para o gênero *Gloeosporium* Desm. & Montag. (MONTAGNE, 1849), que se caracteriza por não apresentar setas, passando a ser chamada de *Gloeosporium musarum* Cooke & Masee (COOKE, 1887; BAXTER; WESTHUIZEN; EICKER, 1985) e, sendo por fim, reclassificada por von Arx (1957a, b) no gênero *Colletotrichum*.

A espécie *C. musae* é taxonomicamente classificada com base no teleomorfo que está inserido no filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, subclasse Sordariomycetidae, ordem *Incertae sedis* e família Glomerellaceae (INDEX FUNGORUM, 2011a). Essa espécie apresenta, frequentemente, colônias com micélio aéreo, abundante, de tonalidade branca, que tornam-se acinzentadas com o passar do tempo, além de considerável massa de conídios, geralmente coalescente. A literatura não relata a presença de (micro)escleródios e de setas. Os conídios são geralmente hialinos, retos, cilíndricos, obtusos nos ápices, unicelulares, possuindo de 10,0-18,0 µm de comprimento x 3,0-6,5 µm de largura (ARX, 1957a, b; SUTTON, 1980; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; COUTO; MENEZES, 2004). Os apressórios são bastante comuns, médios e de coloração castanho-escuro, apresentando forma irregular, muitas vezes, com lóbulos grandes ou profundos, os quais medem 9,0-13,0 x 9,0-11,5 µm (SUTTON, 1980).

A doença caracteriza-se pela formação inicial de pequenas manchas de coloração castanha, que depois tomam a proporção de lesões escuras e deprimidas. Em condições de alta umidade, aparecem frutificações fúngicas que variam de coloração alaranjada a creme, com massas conidiais de coloração salmão, caracterizando os acérvulos de *Colletotrichum* (JEFFRIES et al., 1990; BAILEY et al., 1992; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003). Com o progresso da doença, que pode ocorrer concomitantemente com o amadurecimento da fruta, as lesões aumentam de tamanho, podendo coalescer, formando grandes áreas necróticas, resultando, dessa forma, em frutas de má aparência (CORDEIRO; MATOS, 2000; PESSOA; OLIVEIRA, 2006). As frutas atacadas pelo fitopatógeno amadurecem de maneira mais rápida

do que as sadias e representam um grande risco de perda para toda a carga a ser comercializada (CORDEIRO; MATOS; MEISSNER FILHO, 2004).

A antracnose, geralmente, mantém-se restrita ao pericarpo (casca) da fruta, afetando raramente a polpa, exceto, em condições de altas temperaturas ou quando as frutas encontram-se em avançado estágio de maturação (CORDEIRO; MATOS, 2000; CORDEIRO; MATOS, 2003; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005).

A presença de espécies de *Colletotrichum* como endofíticas em bananeira é bastante interessante. *C. musae* e *C. gloeosporioides* são fungos que fazem parte da microflora endofítica dessa cultura (PEREIRA; VIEIRA; AZEVEDO, 1999; PHOTITA et al., 2001; CAO; YOU; ZHOU, 2002; PHOTITA et al., 2004; NUANGMEK; McKENZIE; LUMYONG, 2008). Contudo, esses fungos também causam doenças em banana (PHOTITA et al., 2001), apoiando a idéia de que os fitopatógenos podem passar parte de suas vidas em estado endofítico na planta, atuando como fitopatógeno latente (BROWN; HYDE; GUEST, 1998). De acordo com De Lapeyre de Bellaire et al. (2000) as peças florais e as brácteas de bananeiras são as mais importantes fontes de inóculo desse fitopatógeno. Esses mesmos autores, investigando as diferentes fontes de inóculo e os métodos de dispersão de conídios de *C. musae*, em Guadalupe, no Caribe, demonstraram que quando essas estruturas da planta foram removidas, houve uma redução significativa da severidade da doença.

Os conídios são formados em condições de alta umidade e são dispersos na chuva, principalmente na mesma planta ou nas plantas próximas. Também ocorre a disseminação pelo vento e por insetos (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003). Para Goos e Tschirsch (1962), em condições de trabalho *in vitro*, a temperatura ótima para crescimento, esporulação e germinação do conídio situa-se na faixa de temperatura de 27 a 30 °C. A taxa de germinação é um pouco mais baixa na presença de luz do que no escuro e os conídios sob umidade relativa do ar superior a 98% germinam entre 6 e 12 horas. De acordo com Al Zaemey et al. (1994), com estudos *in vitro* de *C. musae*, o pH ótimo para o processo de germinação e de crescimento varia entre 4,0 e 5,0, enquanto que a temperatura ótima para esses mesmos processos fisiológicos nessa espécie situa-se em torno de 15 °C.

Pessoa et al. (2007), trabalhando com diferentes temperaturas e período de molhamento em bananas inoculadas com *C. musae*, observaram que a associação das temperaturas de 25 e 30 °C com 36 horas de período de molhamento proporcionaram as maiores lesões na superfície da banana, enquanto que, na temperatura em torno de 15 °C, houve o menor desenvolvimento da doença.

As medidas de controle dessa doença devem ter início no campo de produção, com a adoção de práticas culturais, conforme recomendações para o manejo de doenças na pré-colheita de banana (CORDEIRO; MATOS, 2000). Ploetz, Thomas e Slabaugh (2003) relatam que é primordial a eliminação e posterior remoção da área de cultivo, das folhas velhas, brácteas e restos florais das plantas, já que estes materiais funcionam como repositórios do fitopatógeno no campo de plantio.

Na fase de colheita e pós-colheita todos os cuidados devem ser tomados para evitar ferimentos nas frutas, que são a principal via de penetração dos fitopatógenos. As práticas em pós-colheita de despencamento, limpeza através de lavagem e embalagem devem envolver o manuseio extremamente cauteloso das frutas, além de medidas rigorosas de assepsia. Outro cuidado é no equilíbrio do etileno, responsável pelo processo de amadurecimento climatérico da fruta, uma vez que esse fitohormônio é produzido tanto pelo hospedeiro quanto pelo fitopatógeno (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003).

Como finalização do manejo integrado dessa doença, o último passo é o controle químico que pode ser feito por imersão ou por atomização das frutas com fungicidas (CORDEIRO; MATOS, 2000; VENTURA; HINZ, 2002; CORDEIRO; MATOS, 2003; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005). Em bananas, a hidroterapia e a refrigeração têm sido usadas com propósitos de quarentena, visando estender a vida de prateleira da fruta (ARMSTRONG, 1982; MARRERO-DOMÍNGUEZ; LÓPEZ-CABRERA; POMAR-GARCÍA, 1998) e atualmente estão associadas ao tratamento químico para o controle da doença (SPONHOLZ et al., 2004; COELHO et al., 2010).

Segundo o site do Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit), que é vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2011), há somente dois produtos registrados no Brasil para o tratamento da antracnose da banana, cujos ingredientes ativos são imazalil e tiabendazol, respectivamente.

1.6 Gênero *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum* foi introduzido inicialmente por Tode (1790) com a denominação de *Vermicularia* Tode, porém Corda (1837a) o reclassificou com a denominação de *Colletotrichum* (teleomorfo *Glomerella* Spauld. & H. Schrenk.), entretanto, esse mesmo autor, em outro trabalho alterou para a denominação vigente (CORDA, 1937b). Corda (1831a) caracterizou o gênero *Colletotrichum*, de maneira geral, como fungos que apresentam conídios hialinos, retos, fusiformes ou curvados e acérvulos com setas.

Este gênero possui espécies com vários estilos de vida, passando por espécies endofíticas, epífitas, saprófitas, fitopatogênicas e até patogênicas ao homem (PEREIRA; VIEIRA; AZEVEDO, 1999; KUMAR; HYDE, 2004; PHOTITA et al., 2001, 2003, 2004; CANO; GUARRO; GENE, 2004; LIU; DUAN; XIE, 2007; PRIHASTUTI et al., 2009).

As espécies pertencentes ao gênero *Colletotrichum*, geralmente, são responsáveis pela antracnose e outras doenças de uma grande variedade de espécies de plantas, principalmente plantas de interesse agrônômico, incluindo cereais, leguminosas, plantas ornamentais, hortaliças e árvores frutíferas (SUTTON, 1980; MENEZES, 2002; HYDE et al., 2009). Farr et al. (1989) enumeraram que 48 espécies de *Colletotrichum* causam doenças em plantas e em produtos processados nos Estados Unidos e a espécie que mais predomina é *C. gloeosporioides*, que pode atacar cerca de 470 diferentes gêneros de hospedeiros (SUTTON, 1980; DODD; ESTRADA; JEGER, 1992; CANNON; BUDDIE; BRIDGE, 2008).

Em suma, as antracnoses são relatadas como lesões necróticas profundas, com delimitações nos tecidos, de formato subcircular ou angular, apresentando massas erumpentes de esporos com predominância da coloração alaranjada (BAILEY; JEGER, 1992). Na literatura, em mais de 1000 espécies de plantas, a antracnose tem sido descrita (MORIWAKI; TSUKIBOSHI; SATO, 2002).

As doenças causadas por espécies de *Colletotrichum* também são conhecidas como morte descendente das ponteiiras, podridão da raízes e de flores, manchas e necroses foliares, bem como, tombamento de plântulas — *damping-off* (JEFFRIES et al., 1990; WALLER, 1992). Quando espécies de *Colletotrichum* atacam as folhas, as lesões no tecido foliar aumentam consideravelmente de tamanho e coalescem, destruindo grandes áreas e em casos de infecção severa causam o enrolamento das folhas (DODD; ESTRADA; JEGER, 1992).

Colletotrichum é um fungo cosmopolita, de ampla distribuição geográfica. Esse gênero é encontrado em várias regiões do globo, com ocorrência nas zonas temperada, subtropical e tropical (FARR et al., 1989; WALLER, 1992; DODD; ESTRADA; JEGER, 1992; FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998). As lesões de antracnoses têm maior severidade em regiões tropicais e subtropicais (MENEZES, 2002). Esse fungo ataca diferentes estádios de desenvolvimento da planta e é um dos gêneros fúngicos de maior importância econômica do ponto de vista fitopatológico (JEFFRIES et al., 1990; BAILEY; JEGER, 1992; FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998; TOZZE JUNIOR; MELLO; MASSOLA JUNIOR, 2006; HYDE et al., 2009).

Diferentes espécies ou genótipos de *Colletotrichum* podem infectar diferentes partes da mesma planta hospedeira, causando doenças distintas, que ocorrem sucessivamente,

durante o desenvolvimento da cultura (WALLER, 1992; FREEMAN; SHABI; KATAN, 2000). Por exemplo, o morangueiro (espécies do gênero *Fragaria* L.) pode ser infectado por três espécies de *Colletotrichum* (*C. fragariae* A.N. Brooks, *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*) causando antracnose na fruta e em outras partes da planta (HOWARD et al., 1992) e em *Citrus*, que podem ser afetados por quatro diferentes genótipos de *Colletotrichum* (von ARX, 1957b; LIYANAGE; McMILLAN JR; KISTLER, 1992; FREEMAN, 2000). Por outro lado, diversos hospedeiros podem ser infectados por uma única espécie de *Colletotrichum*, como *C. coccodes* (Wallr.) S. Hughes que causa doenças em muitas espécies de olerícolas, incluindo pimenta, batata, abóbora e tomate (DILLARD, 1992; FREEMAN, 2000).

No processo de infecção, o conídio de *Colletotrichum* adere-se e germina na superfície da planta hospedeira, emite o tubo germinativo e forma, em sua extremidade, o apressório, que por sua vez, germina e dá início ao *peg* de penetração, entrando diretamente na superfície do tecido hospedeiro. Abaixo da cutícula e da epiderme, o fungo cresce, penetra, em seguida, nas células epidérmicas. Em consequência desse processo biológico, a hifa desenvolve-se intra e/ou intercelularmente, e pode permanecer latente por algum tempo. Nas condições ambientais favoráveis, ocorre a morte das células do hospedeiro, resultando nas lesões (JEFFRIES et al., 1990; BAILEY et al., 1992; PERFECT et al., 1999; AGRIOS, 2005c).

De acordo com Agrios (2005c), o micélio produz acérvulos e conídios logo abaixo da cutícula do tecido hospedeiro que se rompe, liberando, posteriormente, os conídios, que causam mais infecção. Os conídios de *Colletotrichum* presentes nos acérvulos estão envolvidos por uma matriz gelatinosa alaranjada constituída de polissacarídeos e de proteínas solúveis em água. A matriz possivelmente protege os conídios da dessecação, aumentando, o potencial e a eficiência de germinação, além de facilitar a penetração no tecido do hospedeiro (MENEZES, 2002). Para Nair, Newhook e Corbin (1983) os conídios de *Colletotrichum* não se constituem como eficientes estruturas de sobrevivência, já que rapidamente perdem a viabilidade após a introdução no solo.

As células conidiogênicas de *Colletotrichum* geralmente são agregadas em conidiomatas (também denominados de acérvulos), e do mesmo modo, podem ser formadas nas ramificações laterais do micélio. No que diz respeito à formação de setas no acérvulo, em substrato natural ou em meio de cultivo, essa formação é variável em função dos diversos fatores ambientais, portanto, a sua presença ou ausência não deve ser utilizada como um caráter de valor taxonômico para separação de *taxa* (MENEZES, 2002).

O fitopatógeno é favorecido por temperatura e umidade relativa do ar elevadas. Os conídios são liberados e distribuídos apenas quando os acérvulos estão molhados. Geralmente

são disseminados por ventos, respingos, chuvas fortes ou por entrar em contato com insetos, outros animais, ferramentas, dentre outros. (AGRIOS, 2005c). Os conídios germinam apenas na presença de água livre ou quando a umidade relativa do ar é bastante elevada (em torno de 100%) (MENEZES, 2002; AGRIOS, 2005c).

Durante a formação do apressório, ocorre a síntese de proteínas necessárias para a produção da melanina que confere a cor escura nos apressórios (MENEZES, 2002). A melanização é considerada como uma condição para a patogenicidade, propiciando ao apressório uma maior infectividade, resistência, rigidez suficiente para o rompimento da cutícula e até servindo como órgão de sobrevivência (WOLKOW; SISLER; VIGIL, 1983; KUBO et al., 1985; MENEZES, 2002; AGRIOS, 2005a, b).

As espécies de *Colletotrichum* apresentam colônias de coloração muito variada, formando em meio de cultura, colônias de tonalidade que vão do branco-gelo ao cinza-escuro, com quantidade variável de micélio aéreo. Além disso, a presença de escleródios e/ou de microescleródios ocorre em algumas espécies do gênero (SUTTON, 1992).

Segundo as estimativas encontradas na literatura, o número de espécies varia bastante. Von Arx (1957a, b) reduziu bastante o número de espécies relacionadas à *Colletotrichum*, de várias centenas (mais de 800 espécies que eram descritas e/ou atribuídas) a 11 espécies com 12 formas, baseando-se em caracteres morfológicos (morfologia dos conídios), relação com o estágio perfeito e patogenicidade, em que muitos táxons foram tratados como sinônimos de *C. gloeosporioides* e *C. dematium* (Pers. ex Fr.) Grove.

Sutton (1980) considerou 22 espécies, adotando para a distinção de espécies, os critérios taxonômicos de morfologia de conídios e apressórios e as características culturais das colônias. Mais tarde, Sutton (1992) aumentou esse número para 39 espécies “aceitas”, incluindo uma variedade e oito *formae speciales*, com base nos padrões utilizados no trabalho anterior e na especificidade do hospedeiro. Kirk et al. (2008) na 10ª edição do Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi estimaram em 60 espécies, enquanto que no site do *Index Fungorum* (acesso em: 21 jan. 2011b), encontrou-se o registro de 707 nomes relacionados a *Colletotrichum*.

Hyde et al. (2009) forneceram uma visão geral de 66 espécies de *Colletotrichum* que estão em uso corrente, descrevendo-as com base na morfologia e na análise filogenética de vários genes e de regiões do genoma fúngico. *C. musae* somente foi estudado com base em caracteres morfológicos. Nesse mesmo trabalho, outros 20 nomes de espécies são considerados de uso incerto.

Colletotrichum é um gênero taxonomicamente confuso com necessidade urgente de revisão (CANNON; BRIDGE; MONTE, 2000; JOHNSTON, 2000; JOHNSTON et al., 2008). Os problemas intrínsecos na sistemática de *Colletotrichum* para a identificação e aplicação correta dos nomes das espécies são motivados por diversos fatores:

1) as espécies descritas possuem poucas distinções nos caracteres morfológicos e com variações consideráveis em meio de cultura. Nesse ponto, a posição taxonômica de algumas espécies, e. g., *C. gloeosporioides*, *C. acutatum*, *C. graminicola* (Ces.) G.W. Wilson e *C. dematium* que ainda não está totalmente definida é considerada como “complexo de espécies” ou “grupo de espécies” (BAILEY; JEGER, 1992; SUTTON, 1992; CANNON; BRIDGE; MONTE, 2000; FREEMAN; SHABI; KATAN, 2000; THAUNG, 2008; HYDE et al., 2009; CAI et al., 2009);

2) as espécies de *Colletotrichum* possuem uma extensa gama de hospedeiros e uma grande variabilidade na patogenicidade dos isolados (BAILEY; JEGER, 1992; FREEMAN; SHABI; KATAN, 2000; LATUNDE-DADA, 2001; DU et al., 2005; THAUNG, 2008);

3) os espécimes-tipo são muitas vezes ausentes ou encontram-se em más condições de preservação, dificultando, dessa forma, a sua utilização para estudos moleculares (CAI et al., 2009);

4) as numerosas sequências da região ITS do rDNA de isolados de *Colletotrichum* depositadas no NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) são, muitas vezes, erroneamente nomeadas (CROUCH; CLARKE; HILLMAN, 2009; DAMM et al., 2009); e,

5) para algumas espécies, a fase teleomórfica é raramente formada (HYDE et al., 2009; CAI et al., 2009). No levantamento feito por Hyde et al. (2009), de um total de 66 espécies estudadas, o teleomorfo é desconhecido para 52 espécies.

Considerando os fatores que foram citados acima, observa-se uma relevante dificuldade em torno da sistemática de *Colletotrichum*, devido, principalmente, à falta de confiança nas características morfológicas. Para contornar essa problemática, os pesquisadores têm utilizado, além de estudos morfológicos, outras metodologias, como dados de sequências do DNA, características culturais, fisiológicas e de patogenicidade, que são pontos necessários para que ocorra uma abordagem polifásica no que diz respeito à identificação de espécies desse gênero (SUTTON, 1992; CANNON; BRIDGE; MONTE, 2000; CROUCH et al., 2009; PRIHASTUTI et al., 2009).

Cai et al. (2009) sugerem que as diferentes abordagens, em trabalhos, que envolve o estudo das espécies de *Colletotrichum* sejam correlacionadas e discutidas entre os tipos de caracteres e os tipos filogenéticos em estudo.

1.7 Caracterização da variabilidade de *Colletotrichum*

É crescente a preocupação científica com o conhecimento da biodiversidade no que diz respeito à variabilidade genética, principalmente em função do aumento da erosão dos recursos genéticos (EHRlich, 1997). O estudo da variabilidade genética é uma ferramenta que pode auxiliar o pesquisador na distinção de diferentes populações pelo uso dos marcadores genéticos que podem ser divididos em morfológicos e moleculares (BERED; BARBOSA NETO; CARVALHO, 1997; LARSON et al., 2000).

A caracterização realizada por meio de marcadores morfológicos é uma técnica tradicionalmente empregada para a identificação de fungos fitopatogênicos, como a do gênero *Colletotrichum* (BAILEY; JEGER, 1992; BURGESS; MALAJCZUK; DELL, 1995; CAI et al., 2009). Aliado a morfologia, são utilizadas outras técnicas correlatas e métodos convencionais, como a caracterização fisiológica, cultural, bioquímica e patogênica (BRIDGE, 1985; VALIM-LABRES et al., 1997; ATKINS; CLARK, 2004; THAN et al., 2008).

Esses métodos envolvem o estudo de vários caracteres inerentes à biologia e à fisiologia do fungo e que podem ser caracterizados tanto macroscópicos quanto microscópicos. Encontra-se na literatura vários exemplos dessas técnicas de caracterizações, como análise de pigmentação (coloração) e superfície da colônia, textura e forma marginal das colônias, reverso da placa, formação de setores, presença ou ausência de setas, (micro)escleródios, acérvulos e da fase teleomórfica, velocidade de crescimento micelial nas espécies cultiváveis artificialmente, processo de formação, formato e tamanho de conídios e de apressórios, esporulação, produção de pigmentos, capacidade de metabolização de substratos orgânicos, isolamento e cultivo de micro-organismos, gama de hospedeiros, especialização patogênica em diferentes órgãos da planta, entre outras (BURGESS; MALAJCZUK; DELL, 1995; VALIM-LABRES et al., 1997; TANAKA; PASSOS, 1998; TANAKA; PASSOS, 2002; TEIXEIRA; VIEIRA; MACHADO, 2004).

Essas características morfológicas, culturais e fisiológicas são tradicionalmente utilizadas na taxonomia de *Colletotrichum* com a finalidade de diferenciar e/ou caracterizar, *in vitro*, espécies morfológicamente próximas, como *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* (SMITH; BLACK, 1990; SUTTON, 1992; FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998; PHOTITA et al., 2005; ANDRADE et al., 2007; THAUNG, 2008).

As técnicas moleculares, baseadas na análise do DNA, vêm sendo cada vez mais utilizadas e têm sido aplicadas com êxito em diferentes áreas da Micologia. Essas técnicas

possibilitam o desenvolvimento de métodos rápidos, sensíveis e específicos na identificação de espécies de fitopatógenos (TEIXEIRA; VIEIRA; MACHADO, 2004).

A detecção da variabilidade genética ocorre na sequência do DNA, ou seja, através do polimorfismo genético. Por utilizarem diretamente o DNA, não sofrem influência dos fatores que afetam a expressão gênica, sendo também consideradas viáveis para uso rotineiro devido à sua rapidez e simplicidade na detecção de variabilidade em fungos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; McCARTNEY et al., 2003; ATKINS; CLARK, 2004). As técnicas se baseiam em métodos imunológicos, tecnologia de sonda de DNA/RNA e a tecnologia da PCR (*Polymerase Chain Reaction*), incluindo, nesse caso, a PCR em tempo real (ATKINS; CLARK, 2004).

Partindo da premissa de identificação via caracteres morfológicos, Goes e Kimati (1997) diferenciaram três grupos de *Colletotrichum* associados à queda prematura das frutas cítricas pelo tamanho de conídios: os isolados do grupo FGG (*C. gloeosporioides*) apresentaram conídios com dimensões maiores, enquanto que os isolados dos grupos SGO e KLA (*C. acutatum*) apresentaram conídios menores e de tamanho intermediário, respectivamente. Agostini, Timmer e Mitchell (1992) caracterizaram o formato dos conídios para estes três grupos: a linhagem FGG possui, em sua maioria, os ápices arredondados e as linhagens SGO e KLA possuem conídios com os ápices, predominantemente, de formato fusiforme.

De maneira análoga à morfologia de conídios, o formato e as dimensões de apressórios, em algumas situações, têm-se mostrado como características úteis; enquanto que em outras, têm-se mostrado pouco consistentes para a identificação das espécies do gênero *Colletotrichum* (TOZZE JÚNIOR, 2007). Tomando por base, a situação em que a caracterização por apressórios é favorável, Goes e Kimati (1997) também diferenciaram os agentes causais associados à queda prematura das frutas cítricas: o grupo denominado FGG (*C. gloeosporioides*) apresenta apressórios, com o predomínio de formato lobulado e com dimensões maiores; por sua vez, o grupo KLA (*C. acutatum*), apressórios arredondados e de dimensões intermediárias e o grupo SGO (*C. acutatum*) tem apressórios de formato clavado e de dimensões menores.

Em relação a circunstâncias em que a identificação de espécies de *Colletotrichum* usando apressórios como padrão é inconsistente, Sutton (1980, 1992) descreve os apressórios de *C. orbiculare* (Berk. & Mont.) Arx [sin.: *C. lagenarium* (Pass.) Ellis & Halst.] com vários formatos (oval, clavado, ligeiramente irregular, não lobulado ou levemente lobulado) e os de *C. gloeosporioides* também com vários formatos (oval, oboval, clavado, irregular e às vezes,

lobulado). Todas essas características morfológicas podem levar a uma confusão no momento de distinguir as duas espécies acima citadas por apresentarem formato muito semelhante de apressórios. Sussel (2005) relata que a forma dos apressórios, quando usada isoladamente, não se constitui como uma boa característica para identificação ou caracterização da espécie *C. orbiculare*.

Andrade et al. (2007) caracterizaram 29 culturas monospóricas de *Colletotrichum* isoladas de frutas e pecíolos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). A caracterização baseou-se, entre outros aspectos, na morfologia de conídios e de apressórios, coloração e crescimento micelial das colônias. Pela morfologia de conídios e de apressórios, os 29 isolados foram identificados como *C. gloeosporioides*, tendo a maioria, conídios cilíndricos e/ou obclavados e apressórios lobados ou fracamente lobados, em contraste com a espécie *C. acutatum*, obtida de morango (*Fragaria x ananassa* Duch) e usada nesse mesmo trabalho para efeito de comparação, que por sua vez, apresentou conídios fusiformes e apressórios circulares e lisos

Outro aspecto que permite diferenciar espécies é o crescimento micelial das colônias, que vem usado para caracterizar a variabilidade de fungos fitopatogênicos (TALHINHAS et al., 2002; PIMENTA, 2009). Swart (1999) estudando antracnose da manga (*Mangifera indica* L.) e de abacate (*Persea americana* Mill.) não observou diferenças no diâmetro de colônias de *C. gloeosporioides*, no período de sete dias de incubação, contudo, verificou diferenças significativas de crescimento micelial de *C. gloeosporioides* de cada hospedeiro nos isolados provenientes das diferentes regiões geográficas em estudo. Talhinhos et al. (2002) diferenciaram pelo crescimento micelial, as espécies *C. gloeosporioides* oriundos de citros e *C. acutatum* obtidos de várias espécies de trevoceiro (*Lupinus* L.), já que aqueles isolados tiveram crescimento mais rápido do que estes.

De acordo com os resultados observados por Simmonds (1965), a coloração das colônias de *Colletotrichum* varia entre espécies e entre isolados da mesma espécie. Segundo descrições de vários pesquisadores, as colônias de *C. gloeosporioides* inicialmente apresentam-se brancas ou cinzas-claras e o substrato (meio de cultura) de cor creme, sendo que em alguns casos, podem ocorrer difusões de cinzas-escuras, com margens mais claras e/ou rosadas (SIMMONDS, 1965; SMITH; BLACK, 1990; BERNSTEIN et al., 1995; ADASKAVEG; HARTIN, 1997; TALHINHAS et al., 2002; PHOTITA et al., 2005).

Couto e Menezes (2004) verificaram que as colônias de quase todos os isolados *C. musae* variaram em coloração, alguns isolados apresentaram coloração branca, outros cinza-clara e somente um foi cinza-escuro. Andrade et al. (2007) constataram que todos os isolados de *Colletotrichum* provenientes do mamoeiro apresentaram-se bastante heterogêneos,

variando de branca a cinza-escura. A coloração, nesse estudo, foi influenciada pelo isolado e pelo meio de cultura utilizado [peptona-glucose-ágar (PGA) e batata-dextrose-agar (BDA)]. Pela coloração, o resultado indica que tais isolados possam ser *C. gloeosporioides*.

A caracterização patogênica é um método bastante comum para a identificação de espécies de *Colletotrichum*. Casos de especificidade de hospedeiro são relatados na literatura, em que muitas espécies e biótipos desse gênero em estudo estão associados a um único hospedeiro (SMITH; BLACK, 1990). Por outro lado, espécies e biótipos também podem estar relacionados a diversos hospedeiros. Considerando esse fato, testes de patogenicidade cruzada também são usados como um método complementar de diferenciação de isolados com o objetivo de verificar a gama de hospedeiros e distinguir as espécies que estão sendo estudadas (DENOYES; BAUDRY, 1995; MUNIZ; SANTOS; BARBOSA, 1998; PERES et al., 2002; BARGUIL, 2006).

O comportamento patogênico de algumas espécies de *Colletotrichum* causando antracnose do pimentão revelou a existência de uma alta variabilidade inter e intraespecífica das espécies (TOZZE JÚNIOR, 2007). Andrade et al. (2007) observaram que todos os 33 isolados de *Colletotrichum* [29 isolados de mamão e quatro de outras hospedeiras — manga (2), morango e maçã (*Malus domestica* Borkh.)] foram patogênicos às frutas de mamoeiro cv. Sunrise Solo, com variações no diâmetro e na severidade das lesões formadas, indicando níveis diferentes de agressividade entre os isolados.

Nascimento (2009) avaliou a patogenicidade de 155 isolados de *Colletotrichum* obtidos a partir de lesões de antracnose, mancha chocolate e podridões pedunculares em frutas de mamoeiro procedentes de várias áreas de plantio do Brasil (Estado de Espírito Santo, Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte). Todos os isolados foram patogênicos, com observação de sintomas típicos e atípicos de antracnose. A caracterização pela patogenicidade permitiu diferenciar os sintomas e correlacioná-las com as espécies envolvidas. Os considerados típicos foram caracterizados por lesões profundas com massas de conídios alaranjadas. Nesse caso, as lesões foram causadas por *C. gloeosporioides* e *C. magna* S.F. Jenkins & Winstead., enquanto que as lesões atípicas de antracnose foram caracterizadas por lesões profundas com massas de conídios negras e marrom-escuras, observadas somente em lesões ocasionadas por alguns isolados de *C. magna*.

Alguns fitopatógenos sobrevivem como saprófitas, com a função ecológica de degradar a matéria orgânica em decomposição do meio ambiente. Para alcançar esse objetivo, os mesmos devem secretar enzimas extracelulares, que é de fundamental importância na penetração e colonização do tecido do hospedeiro e no processo de patogênese (BECKMAN,

1956; DEAN; TIMBERLAKE, 1989; KEON; BYRDE; COOPER, 1990). Como complemento de identificação de fitopatógenos, vários testes bioquímicos são utilizados para diferenciação de espécies, e dentre estes, estão os testes enzimáticos.

Para Mahmoud e Omar (1994) a habilidade inerente de um fungo em produzir enzimas varia entre espécies, assim como entre isolados de uma mesma espécie. Couto, Menezes e Coêlho (2002) afirmam que essa capacidade de produzir ou não determinada enzima, em condições padronizadas, serve como base para diferenciar ou agrupar os isolados de uma espécie fúngica em níveis subespecíficos.

Basicamente, a atividade enzimática das espécies estudadas é realizada em substratos sólidos específicos com uso de diversas fontes de carbono, através da atividade amilolítica, lipolítica, proteolítica e celulolítica (COUTO; MENEZES; COÊLHO, 2002). Outros padrões de carboidratos estão sendo utilizados para resolver a classificação de espécies fúngicas, como as do gênero *Penicillium* subseção *Fasciculata* (BRIDGE, 1985). Ademais, esses mesmos padrões também são usados para diferenciar espécies do gênero *Colletotrichum* (WALLER et al., 1993; PRIHASTUTI et al., 2009).

No caso do agente etiológico do CBD (*Coffee Berry Disease*) — *Colletotrichum kahawae* Waller & Bridge, este é distinguido de outras espécies de *Colletotrichum* que causam doença na baga do cafeeiro (*Coffea* L.) pela incapacidade de utilizar ácido cítrico ou tartarato de amônio como única fonte de carbono (WALLER et al., 1993; PRIHASTUTI et al., 2009). Waller et al. (1993) ainda relacionaram indiretamente essa inabilidade com a patogenicidade e diretamente a uma redução da capacidade saprofítica do fungo. Para esses mesmos autores, a caracterização bioquímica, via esse procedimento, no entanto, tem natureza negativa, requerendo cuidado na avaliação e não deve ser utilizado como único método de caracterização.

A caracterização fundamentada exclusivamente em critérios morfológicos, culturais, fisiológicos, bioquímicos e de patogenicidade embora útil, é bastante limitada por diversos fatores, em função do baixo número de caracteres passíveis de ser analisados e das variações intrínsecas do fitopatógeno (FUNGARO, 2000; PERES et al., 2003). Somado a isso, a existência de formas intermediárias do fungo, *e.g.*, *formae speciales*, e a falta de padronização de algumas condições culturais empregadas nos diferentes estudos, como a utilização de vários meios de cultura, fotoperíodos e temperaturas (influência dos fatores ambientais na estabilidade dos caracteres) contribuem, em demasia, para que ocorram dificuldades na identificação de espécies de *Colletotrichum* (SUTTON, 1992; FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998; LOPEZ, 2001; PERES et al., 2003; ANDRADE et al., 2007; PIMENTA, 2009).

De acordo com Sutton (1980), Menezes (2002), Talhinhos et al. (2002) e Cai et al. (2009) com a finalidade de limitar esses fatores, estudos visando a integração e a padronização dos diversos métodos devem ser considerados para analisar a diversidade inter e intraespecífica de espécies de *Colletotrichum*. Deste modo, outros critérios têm sido utilizados para a diferenciação e caracterização de espécies desse gênero (FREEMAN; RODRIGUEZ, 1995; BROWN; SREENIVASAPRASAD; TIMMER, 1996; KATAN; SHABI, 1996; FREEMAN; KATAN, 1997; FÖRSTER; ADASKAVEG, 1999; LOPEZ, 2001; GUERBER et al., 2003; TOZZE JUNIOR; MELLO; MASSOLA JUNIOR, 2006; TOZZE JÚNIOR, 2007; ANDRADE et al., 2007; ABD-ELSALAM et al., 2010).

Atualmente, um dos critérios mais adotados, aliado as técnicas anteriormente relatadas, são as ferramentas moleculares que estão sendo aplicadas com êxito na diferenciação entre espécies e genótipos do gênero *Colletotrichum* provenientes de vários hospedeiros. As técnicas moleculares são baseadas em análise de DNA e têm possibilitado o desenvolvimento de métodos rápidos, sensíveis e específicos na detecção de fitopatógenos (LOPEZ, 2001; PERES et al., 2003).

Os métodos moleculares utilizados por muitos pesquisadores podem ser divididos em dois principais grupos. O primeiro consiste nas técnicas fundamentadas em reação da PCR (*Polymerase Chain Reaction*), que são comumente utilizadas para caracterizar a diversidade genética entre populações e espécies estreitamente relacionadas de *Colletotrichum* (NGUYEN, 2010).

A técnica da PCR consiste em múltiplos ciclos de três etapas: a desnaturação, a hibridização dos oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) e a extensão, permitindo obter múltiplas cópias da sequência-alvo (BROWN; SREENIVASAPRASAD; TIMMER, 1996). Nesse grupo, as técnicas mais empregadas, incluem RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (BACKMAN; LANDSCHOOT; HUFF, 1999; RATANACHERDCHAI et al., 2007), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (ANDRADE et al., 2007; LIU et al., 2007; NAZRIYA; de COSTA; AZHAAR, 2007), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (SILVA-MANN et al., 2005; HEILMANN et al., 2006), MP-PCR (*Microsatellite-Primed Polymerase Chain Reaction*) (ABD-ELSALAM et al., 2010), ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*) (McKAY et al., 2009; RATANACHERDCHAI et al., 2010; MEDEIROS et al., 2010), etc.

O outro grupo é baseado no sequenciamento e análise filogenética de diversos genes e regiões conservadas do DNA. Entre as técnicas mais utilizadas para esse grupo são, por exemplo, a utilização da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) do DNA ribossomal

(SREENIVASAPRASAD et al., 1996; CANNON; BRIDGE; MONTE, 2000; CANNON; BUDDIE; BRIDGE, 2008; THAN et al., 2008; PRIHASTUTI et al. 2009), de parte do gene da β -tubulina (TUB2) (VINNERE et al., 2002; THAN et al., 2008; PRIHASTUTI et al., 2009; DAMM et al., 2009), da glutamina sintetase (GS) (GUERBER et al., 2003), do gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH), da calmodulina (CaM), da histona 4 (H4), da sequência parcial da actina (ACT) (PRIHASTUTI et al., 2009; DAMM et al., 2009), do fator de alongação 1 α (EF1 α) (CAI et al., 2009), entre outros genes e regiões que têm sido empregados para a identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum*.

De acordo com Cai et al. (2009) a identificação de espécies de *Colletotrichum* deve ser simples e rápida, já que isso tem implicações importantes para o melhoramento de plantas, biossegurança e manejo das doenças. Para isso, ultimamente, o conceito de identificação de espécies por códigos de barras está popularizando-se no meio científico. Essa técnica também chamada de “DNA barcoding” preconiza que pequenas sequências de DNA de uma região padronizada do genoma fúngico fornecem um código de barras de DNA que auxilia na identificação de espécies (HERBERT et al., 2003; SUMMERBELL et al., 2005).

Como exemplo da utilização de marcadores moleculares para identificação de espécies de *Colletotrichum*, Moriwaki, Sato e Tsukiboshi (2003) através da reação da PCR e usando primers específicos (ITS4 e ITS5) conseguiram estabelecer uma nova espécie de *Colletotrichum* (*C. boninense* Moriwaki, Toy. Sato & Tsukib.), que fazia parte do complexo de espécies de *C. gloeosporioides*. A descrição dessa nova espécie foi baseada na morfologia e na homologia intraespecífica da região ITS1 do rDNA de *C. boninense* que variou de 96,9 a 100%, enquanto que interespecificamente, a homologia variou de 80,2 a 82,3% quando comparado com *C. gloeosporioides*.

Andrade et al. (2007), usando a técnica de PCR com o *primer* específico (CgInt) para *C. gloeosporioides*, confirmaram a identidade de apenas quatro isolados desse fungo causando antracnose em frutas de mamoeiro, enquanto que dois isolados apresentaram reação positiva com o *primer* CaInt2, específico para *C. acutatum*. A maioria dos isolados provenientes de mamão não reagiu com nenhum dos *primers*. Por outro lado, a análise de restrição da região ITS do rDNA, com *RsaI*, gerou perfis distintos entre *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* e mostrou uniformidade entre os isolados de mamão.

Than et al. (2008) diferenciaram os agentes etiológicos que causam antracnose em pimenta (*Capsicum* spp.) na Tailândia, em três espécies: *C. acutatum*, *C. capsici* (Syd. & P. Syd.) E.J. Butler & Bisby e *C. gloeosporioides*, com base na caracterização morfológica, sequenciamento da região ITS/5.8S do rDNA e do gene β -tubulina, aliado aos testes de

patogenicidade. Contrariamente, as análises morfológicas e moleculares não foram suficientes para separar *C. gloeosporioides* e *C. magna*, espécies que ocorrem no Brasil como agente causal de podridões de frutas do mamoeiro (NASCIMENTO, 2009; FERREIRA et al., 2010).

Tozze Júnior et al. (2008) verificaram através da identificação molecular por PCR de isolados de *Colletotrichum* associados à antracnose do maracujazeiro no Estado de São Paulo e encontraram a presença de pelo menos duas espécies responsáveis por essa antracnose no Brasil, *C. gloeosporioides* e *C. capsici*. Os resultados também permitiram indicar que a maior parte dos isolados não pertencem à espécie *C. gloeosporioides*, até aquele momento, citada como a única responsável pela antracnose do maracujazeiro no país.

Abd-Elsalam et al. (2010), utilizando a técnica MP-PCR com a finalidade de identificar a variação genética entre os isolados de *C. musae*, observaram uma grande homogeneidade entre os isolados, revelada pela formação de dois agrupamentos no dendrograma gerado. Nesse mesmo trabalho, a similaridade intraespecífica entre os isolados de *C. musae* variou de 83 a 100%.

Cai et al. (2009) analisaram 64 isolados de *C. gloeosporioides sensu lato* (e dois isolados de *C. boninense* como “outgroups”). Cada isolado foi sequenciado com seis genes: ITS, GAPDH, CaM, ACT, CHS (quitina sintase) e EF1 α . Os autores conseguiram, a partir das análises, que dentro de *C. gloeosporioides sensu lato*, os genes GAPDH, CaM e ACT foram excelentes candidatos para representá-los no *DNA barcoding*, enquanto que os genes ITS, CHS e EF1 α , mostraram-se péssimos candidatos na representação do “complexo de espécies” por códigos de barras. O sucesso do *DNA barcoding* para identificação de espécies de *Colletotrichum* depende de sequências de alta confiabilidade do genótipo ou do isolado, além da seleção do gene mais adequado para o estudo (CAI et al., 2009).

Em suma, a correta identificação e caracterização da variabilidade das espécies de *Colletotrichum* patogênicas a uma determinada hospedeira, como no caso da banana, são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias mais eficientes para o manejo integrado, além de propiciar um melhor entendimento da epidemiologia da doença.

Diante do exposto, a presente dissertação teve como objetivo caracterizar a diversidade de isolados de *C. musae* oriundos de três municípios do Estado de Pernambuco, baseada nas características fisiológicas, morfoculturais, patogênicas, bioquímicas e moleculares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAYASEKARA, C.; RATNAYAKE, S.; ADIKARAM, N. K. B. Resistance of banana fruit to fungal disease: an overview. In: JOHNSON, G. I.; HIGHLEY, E.; JOYCE, D. C. (Eds.). **Disease resistance in fruit**. Canberra: Australian Center for International Agricultural Research, 1998. p. 93-104. (ACIAR Proceedings, 80).

ABD-ELSALAM, K. A.; ROSHDY, S.; AMIN, O. E.; RABANI, M. First morphogenetic identification of the fungal pathogen *Colletotrichum musae* (Phyllachoraceae) from imported bananas in Saudi Arabia. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 4, p. 2335-2342, 2010.

ADASKAVEG, J. E.; HARTIN, R. J. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 9, p. 979-987, 1997.

AGOSTINI, J. P.; TIMMER, L. W.; MITCHELL, D. J. Morphological and pathological characteristics of strains of *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 82, n. 11, p. 1377-1382, 1992.

AGRIOS, G. N. Parasitism and disease. In: AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005a. p. 77-104. [p. 85].

AGRIOS, G. N. Genetics of plant disease. In: AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005b. p. 124-174. [p. 144].

AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by fungi. In: AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005c. p. 385-614. [p. 496].

AL ZAEMEY, A. B.; MAGAN, N.; THOMPSON, A. K. *In vitro* studies of the effect of environmental conditions on the anthracnose pathogen of bananas, *Colletotrichum musae*. **International Biodeterioration and Biodegradation**, Barking, v. 33, n. 4, p. 369-381, 1994.

ALMEIDA, G. C.; SILVA, T. Avaliação de perdas na cadeia comercial de banana nanica, banana prata e tomate longa vida. Belo Horizonte: CEASAMINAS; FAEMG; SEBRAE-MG, 2008. 50 p. (Estudo Técnico).

ANDRADE, E. M.; UESUGI, C. H.; UENO, B.; FERREIRA, M. A. S. V. Caracterização morfo-cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 21-31, 2007.

ARGENT, G. C. G. The wild bananas of Papua New Guinea. **Notes from the Royal Botanic Garden**, Edinburgh, v. 35, n. 1, p. 77-114, 1976.

ARMSTRONG, J. W. Development of a hot water immersion quarantine treatment for Hawaiian grown 'Brazilian' bananas. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.75, n. 5, p. 787-790, 1982.

ARX, J. A. von. Revision der zu *Gloeosporium* gestellten pilze. **Verhandelingen der Koninklijke Nederlandsche Akademie van Wetenschappen. Afdeling Natuurkunde. Tweede Sectie**, Amsterdam, v. 51, n. 3, p. 1-153 [p. 107], 1957a.

ARX, J. A. von. Die arten der gattung *Colletotrichum* Corda. **Journal of Phytopathology = Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 29, n. 4, p. 413-468, 1957b.

ATKINS, S. D.; CLARK, I. M. Fungal molecular diagnostics: a mini review. **Journal of Applied Genetics**, Poznań, v. 45, n. 1, p. 3-15, 2004.

BACKMAN, P. A.; LANDSCHOOT, P. J.; HUFF, D. R. Variation in pathogenicity, morphology and RAPD marker profiles in *Colletotrichum graminicola* from turfgrasses. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 4, p. 1129-1135, 1999.

BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. Preface. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 1992. p. x-xii.

BAILEY, J. A.; O'CONNELL, R. J.; PRING, R. J.; NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 1992. p. 88-120.

BARGUIL, B. M. **Antracnose em inflorescências de plantas ornamentais tropicais: caracterização de isolados de *Colletotrichum*, escala diagramática e reação de cultivares**. 2006. 92 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade — Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

BARKAI-GOLAN, R. Postharvest disease initiation. In: BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control**. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. p. 3-24.

BAXTER, A. P.; WESTHUIZEN, G. C. A. van der; EICKER, A. A review of literature on the taxonomy, morphology and biology of the fungal genus *Colletotrichum*. **Phytophylactica**, Pretória, v. 17, n. 1, p.15-18, 1985.

BECKMAN, C. H. Production of pectinase, cellulases, and growth-promoting substance by *Ceratostomella ulmi*. **Phytopathology**, Baltimore, v. 46, n. 11, p. 605-609, 1956.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 3, p. 513-520, 1997.

BERKELEY, M. J. Notices of North American fungi [cont.]. **Grevillea**, London, v. 3, n. 25, p. 1-17 [p. 13], 1874.

BERNSTEIN, B.; ZEHR, E. I.; DEAN, R. A.; SHABI, E. Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan, and other hosts. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, n. 5, p. 478-482, 1995.

BRIDGE, P. D. An evaluation of some physiological and biochemical methods as an aid to the characterization of species of *Penicillium* subsection *Fasciculata*. **Journal of General Microbiology**, London, v. 131, n. 8, p. 1887-1895, 1985.

BROWN, A. E.; SREENIVASAPRASAD, S.; TIMMER, L. W. Molecular characterization of slow-growing orange and Key lime anthracnose strains of *Colletotrichum* from citrus as *C. acutatum*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 86, n. 5, p. 523-527, 1996.

BROWN, K. B.; HYDE, K. D.; GUEST, D. I. Preliminary studies on endophytic fungal communities of *Musa acuminata* species complex in Hong Kong and Australia. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 1, n. 1, p. 27-51, 1998.

BURGESS, T.; MALAJCZUK, N.; DELL, B. Variation in *Pisolithus* and basidiospore morphology, culture characteristics and analysis of polypeptides using 1D SDS-PAGE. **Mycological Research**, Cambridge, v. 99, n. 1, p. 1-13, 1995.

CAI, L.; HYDE, K. D.; TAYLOR, P. W. J.; WEIR, B. S.; 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**, Kunming, v. 39, n. 1, p. 183-204, 2009.

CANNON, P. F.; BRIDGE, P. D.; MONTE, E. Linking the past, present and future of *Colletotrichum* systematics. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M. B. (Eds.). ***Colletotrichum*: host specificity, pathology and host-pathogen interaction**. Saint Paul: American Phytopathological Society Press, 2000. p. 1-20.

CANNON, P. F.; BUDDIE, A. G.; BRIDGE, P. D. The typification of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 104, n. 1, p. 189-204, 2008.

CANO, J.; GUARRO, J.; GENE, J. Molecular and morphological identification of *Colletotrichum* species of clinical interest. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 42, n. 6, p. 2450-2454, 2004.

CAO, L. X.; YOU, J. L.; ZHOU, S. N. Endophytic fungi from *Musa acuminata* leaves and roots in South China. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 169-171, 2002.

CAPPELLINI, R. A.; CEPONIS, M. J. Postharvest losses in fresh fruits and vegetables: postharvest losses in perishable crops. In: MOLINE, H. E. (Ed.). **Postharvest pathology of fruits and vegetables: postharvest losses in perishable crops**. Berkeley: University of California, Agricultural Experiment Station, Division of Agriculture and Natural Resources, 1984. p. 24-30. (Northeastern Regional Research Project NE-87). (University of California Agricultural Experiment Station Bulletin, 1914).

CARDOSO, R. M. C. B. **Avaliação quantitativa de perdas pós-colheita de banana comercializada na cidade de Santo Antônio de Jesus-BA**. 2005. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, 2005.

CHASE, M. W.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; RUDALL, P. J.; FAY, M. F.; HAHN, W. H.; SULLIVAN, S.; JOSEPH, J.; MOLVRAY, M.; KORES, P. J.; GUNISH, T. J.; SYTSMA, K. J.; PIRES, J. C. Higher-level systematics of the monocotyledons: an assessment of current knowledge and a new classification. In: WILSON, K. L.; MORRISON, D. A. (Eds.). **Monocots: systematics and evolution**. Collingwood: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation Publishing, 2000. p. 3-16.

CHEESMAN, E. E. Classification of the bananas. III. Critical notes on species. (c) *M. paradisiaca*, *M. sapientum*. **Kew Bulletin**, London, v. 3, n. 2, p. 145-153, 1948.

CHEESMAN, E. E. Classification of the bananas: the genus *Musa* L. **Kew Bulletin**, London, v. 2, n. 2, p. 106-117, 1947.

COELHO, A. F. S.; DIAS, M. S. C.; RODRIGUES, M. L. M.; LEAL, P. A. M. Controle pós-colheita da antracnose da banana-prata anã tratada com fungicidas e mantida sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 1004-1008, 2010.

COOKE, M. C. New Australian fungi. **Grevillea**, London, v. 16, n. 77, p. 1-6 [p. 3], 1887.

CORDA, A. C. I. III — Abtheilung: die pilze Deutschlands. In: STURM, J. (Ed.). **Deutschlands flora in abbildungen nach der natur mit beschreibungen**. Nürnberg: Sturm, v. 3, n. 12, p. 1-144 [p. 41-42], [Tabela 21]. Escrito em 1831 e publicado em 1837a.

CORDA, A. C. I. **Icones fungorum hucusque cognitorum**. Pragæ: J. G. Calve, v. 1. 1837b. 45 p. [p. 16-17].

CORDEIRO, Z. J. M. Mercado e comercialização. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Cultivo da banana para o Projeto Formoso**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. (Sistema de Produção, 3. Versão eletrônica). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaFormoso/mercado.htm>>. Acesso em: 14 jan. 2011.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças da banana. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 228, p. 12-16, 2005.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças da bananeira. In: FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. (Eds.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2003. p. 323-390.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças fúngicas e bacterianas. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Banana: fitossanidade**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Serviço de Produção de Informação, 2000. p. 36-65. (Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Frutas do Brasil, 8).

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 99-117.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; MEISSNER FILHO, P. E. Doenças e métodos de controle. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (Eds.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 146-182.

COUTO, E. F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 406-412, 2004.

COUTO, E. F.; MENEZES, M.; COÊLHO, R. S. B. Avaliação da patogenicidade e diferenciação enzimática em meio sólido específico de isolados de *Colletotrichum musae*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, n. 3, p. 260-266, 2002.

CRONQUIST, A. The divisions and classes of plants. **Botanical Review**, New York, v. 26, n. 4, p. 425-482, 1981.

CROUCH, J. A.; CLARKE, B. B.; HILLMAN, B. I. What is the value of ITS sequence data in *Colletotrichum* systematics and species diagnosis? A case study using the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* group. **Mycologia**, New York, v. 101, n. 5, p. 648-656, 2009.

CROUCH, J. A.; CLARKE, B. B.; WHITE, J. F.; HILLMAN, B. I. Systematic analysis of the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* and a description of six new species of the fungus from warm season grasses. **Mycologia**, New York, v. 101, n. 5, p. 717-732, 2009.

DAMM, U.; WOUDEBERG, J. H. C.; CANNON, P. F.; CROUS, P. W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, n. 1, p. 45-87, 2009.

DANTAS, J. L. L.; SHEPHERD, K.; SILVA, S. O.; SOARES FILHO, W. S. Classificação botânica, origem, evolução e distribuição geográfica. In: ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2. ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Serviço de Produção de Informação, 1999. p. 27-34.

DANTAS, J. L. L.; SOARES FILHO, W. S. Classificação botânica, origem e evolução. In: ALVES, E. J.; DANTAS, J. L. L.; FILHO, W. S. S.; SILVA, S. O.; OLIVEIRA, M. A.; SOUZA, L. S.; CINTRA, F. L. D.; BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. M. G.; OLIVEIRA, S. L.; FANCELLI, M.; CORDEIRO, Z. J. M.; SOUZA, J. S. (Eds.). **Banana para exportação: aspectos técnicos da produção**. 2. ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Serviço de Produção de Informação, 1997. p. 9-13. (Série Publicações Técnicas, FRUPEX, 18).

de LAPEYRE DE BELLAIRE, L.; CHILLET, M.; DUBOIS, C.; MOURICHON, X. Importance of different sources of inoculum and dispersal methods of conidia of *Colletotrichum musae*, the causal agent of anthracnose, for fruit contamination. **Plant Pathology**, Oxford, v. 49, n. 6, p. 782-790, 2000.

DEAN, R. A.; TIMBERLAKE, W. E. Production of cell wall-degrading enzymes by *Aspergillus nidulans*: a model system for fungal pathogenesis of plants. **Plant Cell**, Rockville, v. 1, n. 3, p. 265-273, 1989.

DENOYES, B.; BAUDRY, A. Species identification and pathogenicity study of French *Colletotrichum* strains isolated from strawberry using morphological and cultural characteristics. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 85, n. 1, p. 53-57, 1995.

DHINGRA, O. D. Patologia pós-colheita. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 122, p. 46-50, 1985.

DILLARD, H. R. *Colletotrichum coccodes*: the pathogen and its hosts. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 1992. p. 225-236.

DODD, J. C.; ESTRADA, A.; JEGER, M. J. Epidemiology of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates in the tropics. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 1992. p. 308-325.

DODDS, K. S. Genetical and cytological studies of *Musa*. V. Certain edible diploids. **Journal of Genetics**, Cambridge, v. 45, n. 2, p. 113-138, 1943.

DU, M. Z.; SCHARDL, C. L.; NUCKLES, E. M.; VAILLANCOURT, L. J. Using mating-type gene sequences for improved phylogenetic resolution of *Colletotrichum* species complexes. **Mycologia**, New York, v. 97, n. 3, p. 641-658, 2005.

EHRlich, P. R. A perda da diversidade: causas e conseqüências. In: WILSON, O. E. (Ed.). **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 27-35.

FARR, D. F.; BILLS, G. F.; CHAMURIS, G. P.; ROSSMAN, A. Y. **Fungi on plants and plant products in the United States**. Saint Paul: American Phytopathological Society Press, 1989. 1252 p. [p. 637].

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução. In: FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. p. 11-12. (Embrapa Cenargen. Documentos, 20).

FERREIRA, V. V. L.; NASCIMENTO, R. J.; BARROS, A. P. O.; MICHEREFF, S. J. Caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas a podridões em frutos de mamoeiro. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO (JEPEX 2010), 10., 2010, Recife. **Anais...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2010. 3 f. Disponível em: <<http://www.sigeventos.com.br/jepex/inscricao/resumos/0001/R0644-1.PDF>>. Acesso em: 23 jan. 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. FAOSTAT (The FAO Statistical Database). **Preliminary 2009 data now available for selected countries and products**. Roma: Food and Agriculture Organization, 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 15 jan. 2011.

FÖRSTER, H.; ADASKAVEG, J. E. Identification of subpopulations of *Colletotrichum acutatum* and epidemiology of almond anthracnose in California. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 89, n. 11, p. 1056-1065, 1999.

FREEMAN, S. Genetic diversity and host specificity of *Colletotrichum* species on various fruits. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M. B. (Eds.). **Colletotrichum: host specificity, pathology and host-pathogen interaction**. Saint Paul: American Phytopathological Society Press, 2000. p. 131-144.

FREEMAN, S.; KATAN, T. Identification of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose and root necrosis of strawberry in Israel. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 5, p. 516-521, 1997.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 82, n. 6, p. 596-605, 1998.

FREEMAN, S.; RODRIGUEZ, R. Differentiation of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose of strawberry by arbitrarily primed PCR. **Mycological Research**, Cambridge, v. 99, n. 4, p. 501-504, 1995.

FREEMAN, S.; SHABI, E.; KATAN, T. Characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of anemone (*Anemone coronaria* L.). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5267-5272, 2000.

FUNGARO, M. H. P. PCR na micologia. **Biotecnologia — Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 3, n. 14, p. 12-16, 2000.

GOES, A.; KIMATI, H. Caracterização morfológica de isolados de *Colletotrichum acutatum* e *Colletotrichum gloeosporioides* associados à queda prematura dos frutos cítricos. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 4-10, 1997.

GOOS, R. D.; TSCHIRSCH, M. Effect of environmental factors on spore germination, spore survival, and growth of *Gloeosporium musarum*. **Mycologia**, New York, v. 54, n. 4, p. 353-367, 1962.

GUERBER, J. C.; LIU, B.; CORRELL, J. C.; JOHNSTON, P. R. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum sensu lato* by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. **Mycologia**, New York, v. 95, n. 5, p. 872-895, 2003.

GULLINO, M. L. Lotta biologica a funghi agenti di marciumi della frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatolico**, Bologna, v. 44, n. 9, p. 5-13, 1994.

HEILMANN, L. J.; NITZAN, N.; JOHNSON, D. A.; PASCHE, J. S.; DOETKOTT, C.; GUDMESTAD, N. C. Genetic variability in the potato pathogen *Colletotrichum coccodes* as determined by Amplified Fragment Length Polymorphism and Vegetative Compatibility Group analyses. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 10, p. 1097-1107, 2006.

HERBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identification through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, London, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003.

HOWARD, C. M.; MAAS, J. L.; CHANDLER, C. L.; ALBREGTS, E. A. Anthracnose of strawberry caused by the *Colletotrichum* complex in Florida. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 76, n. 10, p. 976-981, 1992.

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, n. 1, p. 147-183, 2009.

INDEX FUNGORUM. *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A. Curtis) Arx. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=295348>>. Acesso em: 20 jan. 2011a.

INDEX FUNGORUM. *Colletotrichum*. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>>. Acesso em: 21 jan. 2011b.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**: culturas temporárias e permanentes. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2009. v. 36, p. 1-93.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. SIDRA 2011: Sistema IBGE de recuperação automática. **Produção Agrícola Municipal**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=t&o=11>>. Acesso em: 19 jan. 2011.

JEFFRIES, P.; DODD, J. C.; JEGER, M. J.; PLUMBLEY, R. A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. **Plant Pathology**, Oxford, v. 39, n. 3, p. 343-366, 1990.

JOHNSTON, P. R. The importance of phylogeny in understanding host relationships with *Colletotrichum*. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M. B. (Eds.). **Colletotrichum: host specificity, pathology and host-pathogen interaction**. Saint Paul: American Phytopathological Society Press, 2000. p. 21-28.

JOHNSTON, P. R.; DODD, S.; PARK, D.; MASSEY, B.; CHARUCHINDA, B.; WAIPARA, N.; BUCKLEY, T. Are stable, consistent, reliable, and useful species names possible within *Colletotrichum*? In: PERES, A. N.; TIMMER, L. W. (Orgs.). *Colletotrichum* diseases of fruit crops. INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 9th., 2008, Torino. **Pre-Congress Workshop...** Pisa: Italian Society for Plant Pathology; Milano: Italian Association for Plant Protection, 2008. p. 1-7.

KADER, A. A. Postharvest biology and technology: an overview. In: KADER, A. A. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. 3rd ed. Oakland: University of California, 2002. p. 39-47. (Agriculture and Natural Resources. Publication, 3311).

KATAN, T.; SHABI, E. Vegetative compatibility among isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from almond in Israel. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 102, n. 6, p. 597-600, 1996.

KEON, J. P. R.; BYRDE, R. J. W.; COOPER, R. M. Some aspects of fungal enzymes that degrade cell walls. In: PEGG, G. F.; AYRES, P. G. (Eds.). **Fungal infection of plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. p. 133-158.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. **Ainsworth and Bisby's Dictionary of Fungi**. 10th ed. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 2008. 771 p. [p. 159].

KUBO, Y.; SUZUKI, K.; FURUSAWA, I.; YAMAMOTO, K. Melanin biosynthesis as a prerequisite for penetration by appressoria of *Colletotrichum lagenarium*: site of inhibition by melanin-inhibiting fungicides and their action on appressoria. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 23, n. 1, p. 47-55, 1985.

KUMAR, D. S. S.; HYDE, K. D. Biodiversity and tissue-recurrence of endophytic fungi from *Tripterygium wilfordii*. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 17, n. 1, p. 69-90, 2004.

LANGDON, R. The banana as a key to early American and Polynesian history. **Journal of Pacific History**, Melbourne, v. 28, n. 1, p. 15-35, 1993.

LARSON, S. R.; JONES, T. A.; HU, Z-M.; McCRACKEN, C. L.; PALAZZO, A. Genetic diversity of bluebunch wheatgrass cultivars and a multiple-origin polycross. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 4, p. 1142-1147, 2000.

LATUNDE-DADA, A. O. *Colletotrichum*: tales of forcible entry, stealth, transient confinement and breakout. **Molecular Plant Pathology**, Bristol, v. 2, n. 4, p. 187-198, 2001.

LICHTEMBERG, L. A. Colheita e pós-colheita da banana. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 196, p. 73-90, 1999.

LIU, B.; WASILWA, L. A.; MORELOCK, T. E.; O'NEILL, N. R.; CORRELL, J. C. Comparison of *Colletotrichum orbiculare* and several allied *Colletotrichum* spp. for mtDNA RFLPs, intron RFLP and sequence variation, vegetative compatibility, and host specificity. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 97, n. 10, p. 1305-1314, 2007.

LIU, X. Y.; DUAN, J. X.; XIE, X. M. *Colletotrichum yunnanense* sp. nov., a new endophytic species from *Buxus* sp. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 100, n. 1, p. 137-144, 2007.

LIYANAGE, H. D.; McMILLAN JR., R. T.; KISTLER, H. C. Two genetically distinct populations of *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 82, n. 11, p. 1371-1376, 1992.

LOPES, G. M. B.; NASCIMENTO, S. M.; SILVA JUNIOR, J. F.; GONÇALVES, W. M. **Difusão de tecnologia para o sistema produtivo de banana na Zona da Mata Norte de Pernambuco: a educação rural como eixo estratégico.** Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco, 2002. 51 p. (IPA. Documentos, 29).

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas.** Passo Fundo: Gráfica e Editora Padre Berthier dos Missionários da Sagrada Família, 2001. v. 9. p. 291-337.

MAHMOUD, A. L. E.; OMAR, S. A. Enzymatic activity and mycotoxin-producing potential of fungi isolated from rotted lemons. **Cryptogamie Mycologie**, Paris, v. 15, n. 2, p. 117-124, 1994.

MAIA, V. M.; SALOMÃO, L. C. C.; SIQUEIRA, D. L.; PUSCHMANN, R.; MOTA FILHO, V. J. G.; CECON, P. R. Tipos e intensidade de danos mecânicos em bananas 'prata-anã' ao longo da cadeia de comercialização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 365-370, 2008.

MARI, M.; GUIZZARDI, M. The postharvest phase: emerging technologies for the control of fungal diseases. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 26, n. 1, p. 59-66, 1998.

MARRERO-DOMÍNGUEZ, A.; LÓPEZ-CABRERA, J. J.; POMAR-GARCÍA, M. Effects of hot water treatments on postharvest quality and ethylene synthesis of bananas. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 490, n. 1, p. 529-536, 1998.

MARTINS, M. C.; AMORIM, L.; LOURENÇO, S. A.; GITIERREZ, A. S. S.; WATANABE, H. S. Incidência de danos pós-colheita em goiabas no mercado atacadista de São Paulo e sua relação com a prática de ensacamento dos frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 245-248, 2007.

MASCARENHAS, G. C. C. Banana: comercialização e mercados. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 196, p. 97-108, 1999.

MATSUURA, F. C. A. U.; COSTA, J. I. P.; FOLEGATTI, M. I. S. Marketing de banana: preferências do consumidor quanto aos atributos de qualidade dos frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 45-52, 2004.

McCARTNEY, H. A.; FOSTER, S. J.; FRAAIJE, B. A.; WARD, E. Molecular diagnostics for fungal plant pathogens. **Pest Management Science**, Sussex, v. 59, n. 2, p. 129-142, 2003.

McKAY, S. F.; FREEMAN, S.; MINZ, D.; MAYMON, M.; SEDGLEY, M.; COLLINS, G. C.; SCOTT, E. S. Morphological, genetic, and pathogenic characterization of *Colletotrichum acutatum*, the cause of anthracnose of almond in Australia. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 99, n. 8, p. 985-995, 2009.

MEDEIROS, L. V.; MACIEL, D. B.; MEDEIROS, V. V.; KIDO, L. M. H.; OLIVEIRA, N. T. *pelB* gene in isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from several hosts. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 2, p. 661-673, 2010.

MEDINA, J. C. Cultura. In: MEDINA, C. J.; BLEINROTH, E. W.; MARTIN, Z. J.; TRAVAGLINI, D. A.; OKADA, M.; QUAST, D. G.; HASHIZUME, T.; MORETTI, V. A.; BICUDO NETO, L. C.; ALMEIDA L. A. S. B.; RENESTO, O. V. **Banana: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. 2. ed. rev. e ampl. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1985. p. 1-131. (ITAL. Frutas Tropicais, 3).

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, (Suplemento), p. S23-S24, 2002.

MINDZIE, C. M.; DOUTRELEPONT, H.; VRYDAGHS, L.; SWENNEN, R. L.; SWENNEN, R. J.; BEECKMAN, H.; de LANGHE, E.; de MARET, P. First archaeological evidence of banana cultivation in central Africa during the third millennium before present. **Vegetation History and Archaeobotany**, Heidelberg, v. 10, n. 1, p. 1-6, 2001.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Consulta de Praga/Doença**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins, 2011. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 jan. 2011.

MONTAGNE, J. P. F. C. Sixième centurie de plantes cellulaires nouvelles, tant indigènes qu' exotiques. Décades VIII a X. **Annales des Sciences Naturelles, Botanique (Troisième série)**, Paris, v. 12, n. 1, p. 285-320 [295-296], 1849.

MORAES, W. S.; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J. D. Incidência de fungos em pós-colheita de banana "Prata Anã" (*Musa AAB*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 67-70, 2006.

MORIWAKI, J.; SATO, T.; TSUKIBOSHI, T. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum boninense* sp. nov. from Japan. **Mycoscience**, Tokyo, v. 44, n. 1, p. 47-53, 2003.

MORIWAKI, J.; TSUKIBOSHI, T.; SATO, T. Grouping of *Colletotrichum* species in Japan based on rDNA sequences. **Journal General Plant Pathology**, Tokyo, v. 68, n. 4, p. 307-320, 2002.

MUNIZ, M. F. S.; SANTOS, R. C. R.; BARBOSA, G. V. S. Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre algumas plantas frutíferas. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 24, n. 2, p. 177-179, 1998.

NAIR, J.; NEWHOOK, F. J.; CORBIN, J. B. Survival of *Colletotrichum acutatum* f. sp. *pineae* in soil and pine debris. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 81, n. 1, p. 53-63, 1983.

NASCIMENTO, R. J. **Caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas às podridões em frutos de mamoeiro**. 2009. 86 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

NAZRIYA, N. F.; de COSTA, D. M.; AZHAAR, A. S. Genomic variations of *Colletotrichum musae* morphotypes infecting banana varieties of Sri Lanka. In: PERADENIYA UNIVERSITY RESEARCH SESSIONS, 12., 2007, Part I, Peradeniya. **Proceedings...** Peradeniya: Peradeniya of University, 2007. 2 f. Disponível em: <<http://www.pdn.ac.lk/purse/purse07/papers/001.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2011.

NELSON, S. C.; PLOETZ, R. C.; KEPLER, A. K. ***Musa* species (banana and plantain)**: Musaceae (banana family), 2006. 33 p. (Species Profiles for Pacific Island Agroforestry, ver. 2.2). Disponível em: <<http://agroforestry.net/tti/Musa-banana-plantain.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2011.

NGUYEN, P. T. H. ***Colletotrichum* spp. associated with anthracnose disease on coffee in Vietnam and on some other major tropical crops**. 2010. 66 f. Thesis. (Ph. D in Phytopathology) - Faculty of Landscape Planning, Horticulture, and Agricultural Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, 2010. (Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, 39).

NUANGMEK, W.; MCKENZIE, E. H. C.; LUMYONG, S. Endophytic fungi from wild banana (*Musa acuminata* Colla) works against anthracnose disease caused by *Colletotrichum musae*. **Research Journal of Microbiology**, New York, v. 3, n. 5, p. 368-374, 2008.

NUNES, R. F. M.; ALVES, E. J.; OLIVEIRA, C. A. V. **Comportamentos de cultivares de banana no Vale de São Francisco**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2001. 34 p. (Embrapa Semi-Árido. Documentos, 173).

PEREIRA, J. O.; VIEIRA, M. L. C.; AZEVEDO, J. L. Endophytic fungi from *Musa acuminata* and their reintroduction into axenic plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 37-40, 1999.

PEREIRA, V. M. O.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; QUEIROGA, R. C. F.; SOUSA, J. S.; WANDERLEY, J. A. C. Incidência e frequência de fungos em bananas comercializadas na feira livre de Pombal-PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 4, p. 55-60, 2010.

PERES, A. P.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO, J. C. Variabilidade morfo-cultural e genética de fungos associados à podridão peduncular do mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1053-1062, 2003.

PERES, N. A. R. **Caracterização patogênica, morfológica, cultural e molecular de *Colletotrichum acutatum* e *Colletotrichum* spp. em frutas pós-colheita**. 1998. 91 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia — Área de concentração em Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 1998.

PERES, N. A. R.; KURAMAE, E. E.; DIAS, M. S. C.; SOUZA, N. L. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology = Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v. 150, n. 3, p. 128-134, 2002.

PERFECT, S. E.; HUGHES, H. B.; O'CONNELL, R. J.; GREEN, J. R. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v. 27, n. 2-3, p. 186-198, 1999.

PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças da banana. In: OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. (Orgs.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 539-553.

PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H.; SANTOS, A. M. G. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 147-151, 2007.

PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H.; SANTOS, A. M. G. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 147-151, 2007.

PETCH, T. Additions to Ceylon fungi. **Annals of the Royal Botanic Gardens of Peradeniya**, Peradeniya, v. 6, n. 3, p. 195-256 [p. 223], 1917.

PHOTITA, W.; LUMYONG, P.; McKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D.; LUMYONG, S. Saprobic fungi on dead wild banana. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 85, n. 1, p. 345-356, 2003.

PHOTITA, W.; LUMYONG, S.; LUMYONG, P.; HYDE, K. D. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. **Mycological Research**, Cambridge, v. 105, n. 12, p. 1508-1514, 2001.

PHOTITA, W.; LUMYONG, S.; LUMYONG, P.; McKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D. Are some endophytes of *Musa acuminata* latent pathogens? **Fungal Diversity**, Kunming, v. 16, n. 1, p. 131-140, 2004.

PHOTITA, W.; TAYLOR, P. W. J.; FORD, R.; HYDE, K. D.; LUMYONG, P.; Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 18, n. 1, p. 117-133, 2005.

PIMENTA, A. A. **Caracterização morfológica, patogênica e genética de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em manga (*Mangifera indica* L.)**. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia — Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

PLOETZ, R. C.; KEPLER, A. K.; DANIELLS, J.; NELSON, S. C. **Banana and plantain — an overview with emphasis on Pacific island cultivars: Musaceae (banana family)**. 2007. 27 p. (Species Profiles for Pacific Island Agroforestry, ver. 1). Disponível em: <<http://www.agroforestry.net/tti/Banana-plantain-overview.pdf>>. Acesso em: 19 jan. 2011.

PLOETZ, R. C.; THOMAS, J. E.; SLABAUGH, W. R. Diseases of banana and plantain. In: PLOETZ, R. C. (Ed.). **Diseases of tropical fruit crops**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 2003. p. 73-134.

PRIHASTUTI, H.; CAI, L.; CHEN, H.; McKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in Chiang Mai, Thailand. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, n. 1, p. 89-109, 2009.

PRUSKY, D.; PLUMBLEY, R. A. Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International. 1992. p. 289-307.

RANGEL, A.; PENTEADO, L. A. C.; TONET, R. M. **A cultura da banana**. 2. ed. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral, 2002. 91 p. (CATI. Boletim Técnico, 234).

RATANACHERDCHAI, K.; WANG, H. K.; LIN, F. C.; SOYTONG, K. RAPD analysis of *Colletotrichum* species causing chilli anthracnose disease in Thailand. **Journal of Agricultural Technology**, Siracha, v. 3, n. 2, p. 211-219, 2007.

RATANACHERDCHAI, K.; WANG, H-K.; LIN, F-C.; SOYTONG, K. ISSR for comparison of cross-inoculation potential of *Colletotrichum capsici* causing chilli anthracnose. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 4, n. 1, p. 76-83, 2010.

ROBINSON, J. C.; GALÁN-SAÚCO, V. Distribution and importance. In: ROBINSON, J. C.; GALÁN-SAÚCO, V. (Eds.). **Bananas and plantains**. 2nd ed. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 2010. p. 1-20. (Centre for Agriculture and Biosciences International. Crop Production Science in Horticulture Series, 19).

RODRIGUEZ, R. J.; OWEN, J. L. Isolation of *Glomerella musae* [teleomorph of *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx.] and segregation analysis of ascospore progeny. **Experimental Mycology**, Orlando, v. 16, n. 4, p. 291-301, 1992.

SILVA JÚNIOR, J. F.; COÊLHO, R. S. B.; MICHEREFF, S. J. **Situação da Sigatoka-amarela da bananeira no Vale do Siriji, Pernambuco**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária; Recife: Superintendência Federal de Agricultura, 2000. 15 p. (Relatório Técnico).

SILVA, C. S.; PEROSA, J. M. Y.; RUA, P. S.; ABREU, C. L. M.; PÂNTANO, S. C.; VIEIRA, C. R. Y. I.; BRIZOLA, R. M. O. Avaliação econômica das perdas de banana no mercado varejista: um estudo de caso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 229-234, 2003.

SILVA, J. R.; CORDEIRO, Z. J. M. Fitossanidade na exportação de banana. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Banana: fitossanidade**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Serviço de Produção de Informação, 2000. p. 9-14. (Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Frutas do Brasil, 8).

SILVA, S. O. Cultivares de banana para exportação. In: CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Banana. Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Serviço de Produção de Informação, 2000. p. 30-38. (Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Frutas do Brasil, 1).

SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO, J. C.; BERNARDINO FILHO, J. R.; SALGADO, K. C. C.; STEVENS, M. R. AFLP markers differentiate *Colletotrichum gossypii* from *C. gossypii* var. *cephalosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 169-172, 2005.

SIMMONDS, J. H. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, Brisbane, v. 22, n. 4, p. 437-459, 1965.

SIMMONDS, N. W. **Los plátanos**. Barcelona: Editorial Blume, 1973. 539 p.

SIMMONDS, N. W.; SHEPHERD, K. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. **Journal of the Linnean Society of London (Botany)**, London, v. 55, n. 359, p. 302-312, 1955.

SMITH, B. J.; BLACK, L. L. Morphological, cultural, and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74, n. 1 p. 69-76, 1990.

SNOWDON, A. L. **A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of fruits and vegetables: fruits and general introduction**. London: Wolfe Scientific, 1990. 302 p.

SOUZA, A. T.; CONCEIÇÃO, O. A. **Fatores que afetam a qualidade da banana na agricultura familiar catarinense**. Florianópolis: Instituto Cepa, 2002. 67 p.

SOUZA, J. S.; TORRES FILHO, P. Aspectos socioeconômicos. In: ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2. ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Serviço de Produção de Informação, 1999a. p. 507-524.

SOUZA, J. S.; TORRES FILHO, P. Mercado. In: ALVES, E. J. (Org.). **A cultura da banana: aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. 2. ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura; Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Serviço de Produção de Informação, 1999b. p. 525-543.

SPONHOLZ, C.; BATISTA, U. G.; ZAMBOLIM, L.; SALOMÃO, L. C. C.; CARDOSO, A. A. Efeito do tratamento hidrotérmico e químico de frutos de banana 'Prata' no controle da antracnose em pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 480-485, 2004.

SREENIVASAPRASAD, S.; MILLS, P. R.; MEEHAN, B. M.; BROWN, A. E. Phylogeny and systematics of 18 *Colletotrichum* species based on ribosomal DNA spacer sequences. **Genome**, Ottawa, v. 39, n. 3, p. 499-512, 1996.

STOVER, R. H.; SIMMONDS, N. W. **Bananas**. 3rd. ed. New York: Longman Scientific & Technical, 1987. 468 p.

SUMMERBELL, R. C.; LÉVESQUE, C. A.; SEIFERT, K. A.; BOVERS, M.; FELL, J. W.; DIAZ, M. R.; BOEKHOUT, T.; de HOOG, G. S.; STALPERS, J.; CROUS, P. W. Microcoding: the second step in DNA barcoding. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, London, v. 360, n. 1462, p. 1897-1903, 2005.

SUSSEL, A. A. B. **Caracterização de isolados de *Colletotrichum lagenarium*, agente causal da antracnose das cucurbitáceas**. 2005. 68 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes: fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696 p. [p. 523-537].

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, 1992. p. 1-26.

SWART, G. M. **Comparative study of *Colletotrichum gloeosporioides* from avocado and mango**. 1999. 193 f. Thesis (Ph. D in Phytopathology) - Faculty of Biological and Agricultural Sciences, University of Pretoria, Pretoria, 1999.

TALHINHAS, P.; SREENIVASAPRASAD, S.; NEVES-MARTINS, J.; OLIVEIRA, H. Genetic and morphological characterisation of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, n. 9, p. 986-996, 2002.

TANAKA, M. A. S.; PASSOS, F. A. Caracterização cultural e morfo-fisiológica de isolados de *Colletotrichum* causadores de antracnose do morangueiro em São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 24, n. 2, p. 145-151, 1998.

TANAKA, M. A. S.; PASSOS, F. A. Caracterização patogênica de *Colletotrichum acutatum* e *C. fragariae* associados à antracnose do morangueiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 484-488, 2002.

TEIXEIRA, H.; VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO J. C. Marcadores RAPD na análise da diversidade genética de isolados de *Acremonium strictum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 651-655, 2004.

THAN, P. P.; JEEWON, R.; HYDE, K. D.; PONGSUPASAMIT, S.; MONGKOLPORN, O.; TAYLOR, P. W. J. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. **Plant Pathology**, Oxford, v. 57, n. 3, p. 562-572, 2008.

THAUNG, M. M. Coelomycete systematic with special reference to *Colletotrichum*. **Mycoscience**, Tokyo, v. 49, n. 6, p. 345-350, 2008.

TODE, H. J. **Fungi Mecklenburgenses selecti**: nova fungorum genera complectens. Lüneburg: Lemke, 1790. v. 1. 57 p. [p. 31].

TOZZE JÚNIOR, H. J. **Caracterização e identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do pimentão (*Capsicum annuum*) no Brasil**. 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; FISCHER, I. H.; CÂMARA, M. P. S.; MASSOLA JÚNIOR, N. S. Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados à antracnose do maracujazeiro-amarelo no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20., ANNUAL MEETING OF THE INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE, 54th., 2008, Vitória. **Anais...** Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2008. 5 p. Disponível em: <http://200.137.78.15/cd_XXCBF/paginas/Fitopatologia/20080731_111804.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2010.

TOZZE JUNIOR, H. J.; MELLO, M. B. A.; MASSOLA JUNIOR, N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 71-79, 2006.

VALIM-LAMBRES, M. E.; PRESTES, A. M.; SAND, S. van der; MATSUMURA, A. T. S. Variação no aspecto cultural, morfologia e virulência em isolados de *Bipolaris sorokiniana* de trigo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 483-487, 1997.

VENTURA, J. A.; HINZ, R. H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIN, L.; VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. (Eds.). **Controle de doenças de plantas: fruteiras**. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora Ltda., 2002. v. 2, p. 839-938.

VINNERE, O.; FATEHI, J.; WRIGHT, S. A. I.; GERHARDSON, B. The causal agent of anthracnose of *Rhododendron* in Sweden and Latvia. **Mycological Research**, Cambridge, v. 106, n. 1, p. 60-69, 2002.

WALLER, J. M. *Colletotrichum* diseases of perennial and other cash crops. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 1992. p. 167-185.

WALLER, J. W.; BRIDGE, P. D.; BLACK, R.; HAKIZA, G. Characterization of the coffee berry disease pathogens, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. **Mycological Research**, Cambridge, v. 97, n. 8, p. 989-994, 1993.

WARDLAW, C. W. **Diseases of the banana and of the Manila hemp plant**. London: MacMillan and Co., Limited., 1935. 615 p. [p. 447].

WARDLAW, C. W. Other fruit diseases. In: WARDLAW, C. W. **Banana diseases**. 2nd ed. London: Longman Group Limited., 1972. p. 509-551.

WOLKOW, P. M.; SISLER, H. D.; VIGIL, E. L. Effect of inhibitors of melanin biosynthesis on structure and function of appressoria of *Colletotrichum lindemuthianum*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 23, n. 1, p. 55-71, 1983.

Capítulo II

**Caracterização de isolados de *Colletotrichum musae*,
agente causal da antracnose da banana, no Estado de
Pernambuco, Brasil**

1 **Caracterização de isolados de *Colletotrichum musae*, agente causal da antracnose da**
2 **banana, no Estado de Pernambuco, Brasil**

3

4 **Paulo César das Mercês Santos • Waléria Guerreiro Lima • Ricardo Brainer Martins •**
5 **Sami Jorge Michereff • Marcos Paz Saraiva Câmara**

6

7 **RESUMO** A antracnose da banana, causada pelo fungo *Colletotrichum musae*, é uma das
8 mais importantes doenças pós-colheita. Com a finalidade de identificar o agente causal dessa
9 doença e caracterizar a sua diversidade, 60 isolados provenientes de campos de produção de
10 banana de três municípios do Estado de Pernambuco foram caracterizados quanto à taxa de
11 crescimento micelial diária em meio BDA, coloração, topografia, presença de setores e de
12 microescleródios, morfologia de conídios, atividade bioquímica, patogenicidade e molecular.
13 Os isolados, com base na morfologia e de acordo com o intervalo de confiança ($P = 0,05$),
14 foram identificados como *C. musae*, tendo a maioria, conídios retos, oblongos, com ápices
15 arredondados. Para a taxa de crescimento micelial diária, os valores variaram de 1,21 a 1,63
16 cm.dia^{-1} . Foram encontrados três grupos marcantes de coloração para as colônias: branca,
17 creme e salmão, enquanto que a presença de setores variou de zero a oito por isolado. A
18 maioria dos isolados (53) metabolizou o tartarato de amônio como fonte exclusiva de
19 carbono, enquanto que para o ácido cítrico, todos os isolados, com exceção do CMM 3219,
20 não foram capazes de metabolizar essa fonte de carbono. A caracterização patogênica mostrou
21 diferenças significativas na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutas

Paulo C. M. Santos (✉) • Waléria G. Lima • Sami J. Michereff • Marcos P. S. Câmara (✉)
Área de Fitossanidade, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900
Recife, Brasil;
Fone-Fax:00 +55 81 3320-6205
e-mail: pcmerces@bol.com.br
e-mail: mcamara@depa.ufrpe.br

Ricardo B. Martins
Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Alagoas, 57309-005 Arapiraca, Brasil

22 inoculadas com fermento, indicando a existência de variabilidade de agressividade entre os
23 isolados. O dendrograma gerado pela análise de agrupamento UPGMA com base no marcador
24 molecular ISSR-PCR revelou a formação de três grupos de isolados pelo coeficiente de
25 similaridade de Jaccard. A utilização de marcadores ISSR-PCR mostrou-se bastante útil no
26 estudo populacional de *C. musae*.

27

28 **Palavras-chave** Atividade bioquímica, Crescimento micelial, Doenças pós-colheita,
29 Morfologia conidial, *Musa* spp., Patogenicidade

30

31 **INTRODUÇÃO**

32

33 A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais consumidas no Brasil e no mundo, sendo
34 cultivada pela maioria dos países tropicais. O Brasil é atualmente o quarto maior produtor,
35 respondendo por cerca de 14,0% da produção mundial. Em 2009, produziu aproximadamente
36 6,8 milhões de toneladas de cachos (IBGE, 2009; FAO, 2011). A banana ocupa o segundo
37 lugar em volume de frutas produzidas e consumidas no Brasil e a terceira posição em área
38 colhida (Gasparotto & Pereira, 2010)

39 Apesar do Brasil se sobressair como um grande produtor e consumidor, a
40 bananicultura nacional enfrenta sérios problemas nas fases de produção e pós-colheita,
41 restringindo a sua inserção no mercado internacional (Silva & Cordeiro, 2000). E um dos
42 fatores limitantes e que acarretam perdas consideráveis para a cultura, a qualidade sanitária da
43 fruta que é produzida é um dos que mais se destacam.

44 Em relação às doenças, as podridões pós-colheita ocasionam perdas significativas,
45 podendo chegar a 60% (Lichtemberg, 1999). Dentre as patologias pós-colheita da banana, a
46 antracnose, cujo agente causal é relatado como *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A. Curtis)

47 Arx (sin.: *Gloeosporium musarum* Cooke & Masee) representa o mais grave problema em
48 todas as regiões produtoras do mundo (Ventura & Hinz, 2002; Cordeiro et al., 2005). A
49 doença, geralmente, ocorre na fase de maturação, entretanto o fungo infecta as frutas verdes,
50 no campo de produção e as infecções permanecem quiescentes até o início do estágio de
51 maturação da fruta (Cordeiro & Matos, 2005; Cordeiro et al., 2005).

52 A identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* causando antracnose,
53 tradicionalmente são baseadas em caracteres morfológicos, como tamanho e forma dos
54 conídios e dos apressórios, presença de seta e do teleomorfo, além das características culturais
55 e fisiológicas, tais como coloração de colônia, taxa de crescimento e textura (Smith & Black,
56 1990). Para superar os problemas taxonômicos associados a esses métodos de identificações
57 tradicionais, técnicas moleculares, como reação da PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e
58 análises de sequências de DNA são utilizados, como ferramenta auxiliar no estudo do
59 “complexo de espécies” do gênero *Colletotrichum* (Sreenivasaprasad et al., 1996; Cannon et
60 al., 2000; Peres et al., 2002; Photita et al., 2005).

61 Baseado em critérios morfológicos de conídios e de apressórios, crescimento micelial,
62 temperatura e pH, Lim et al. (2002) diferenciaram *C. musae* isolado de banana e *C.*
63 *gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. proveniente de lesões de antracnose da pimenta.
64 Photita et al. (2005), trabalhando com isolados de *Colletotrichum* de diversas hospedeiras,
65 conseguiram diferenciar pela morfologia, fisiologia e análise molecular com base na
66 sequência ITS1 e ITS2, isolados de *C. gloeosporioides* e *C. musae*, porém esta última espécie
67 foi posicionado perto dos clados de *C. gloeosporioides*, com 97% de suporte pelos valores de
68 *bootstrap*.

69 Apesar da importância como fitopatógeno da bananeira em doenças pós-colheita,
70 existem relativamente poucos estudos morfológicos e genéticos sobre a espécie *C. musae*
71 (Freeman et al., 1997; Couto & Menezes, 2004; Lim et al., 2002; Photita et al., 2005; Abd-

72 Elsalam et al., 2010). Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo identificar o agente
73 causal das lesões de antracnose em frutas de bananeira e analisar a diversidade dos isolados
74 dessa espécie através das características morfológicas, fisiológicas, culturais, patogênicas e
75 moleculares.

76

77 **MATERIAL E MÉTODOS**

78

79 **Coleta e preservação dos isolados de *Colletotrichum musae***

80

81 Os isolados de *C. musae* foram obtidos de frutas de bananeira cvs. Pacovan e Prata,
82 coletadas em campos de produção nos municípios de Vicência (Mata Norte Pernambucana),
83 São Vicenter Férrer e Machados (Agreste Pernambucano) (Figura 1).

84 Para o isolamento, as frutas em estágio de maturação comercial I foram colocadas
85 desinfestadas com NaClO 1,5% por três minutos e lavadas com ADE por dois minutos (duas
86 vezes consecutivas). Posteriormente, as frutas foram secas com papel toalha e depositadas em
87 bandejas para que ocorresse o completo amadurecimento nas condições de alta umidade,
88 visando obter a esporulação do fungo. O isolamento direto foi realizado tocando levemente
89 sobre a massa de esporos das lesões, com uma alça flambada. Em seguida, a massa foi
90 plaqueada em meio BDA (batata: 200 g, dextrose: 20 g, ágar: 17 g, água destilada: 1000 mL)
91 (Riker & Riker, 1936) suplementado com 50 µg/mL de cloridrato de tetraciclina. Visando
92 garantir a uniformidade genética necessária à realização dos experimentos, culturas
93 monospóricas foram obtidas conforme a metodologia descrita por Ho & Ko (1997) com
94 modificações.

95 As culturas dos isolados estão incorporadas na Coleção de Fungos Fitopatogênicos
96 “Professora Maria Menezes” — CMM, da Universidade Federal Rural de Pernambuco,

97 localizada em Recife, Pernambuco, Brasil e conservadas em água destilada esterilizada
98 (Castellani, 1939).

99

100 **Caracterização fisiológica e cultural dos isolados**

101

102 Para caracterização fisiológica e cultural foram utilizados os 60 isolados obtidos na
103 prospecção (20 de cada área de coleta). A caracterização fisiológica baseou-se no crescimento
104 micelial em meio de cultura. Discos de BDA (4 mm de diâmetro) contendo estruturas
105 fúngicas do fitopatógeno e com cinco dias de idade foram transferidos das bordas da cultura
106 monospórica para o centro de placas de Petri (9 cm de diâmetro) com o meio BDA
107 (Himedia[®]) (39 g.L⁻¹). Após a repicagem, as placas foram mantidas em fotoperíodo de 12 h, à
108 temperatura de 25 ± 1 °C. A partir do primeiro dia após a repicagem, com o uso de uma régua
109 milimetrada, foi realizada a mensuração do diâmetro médio das colônias, em dois sentidos
110 perpendiculares, para o cálculo da taxa de crescimento micelial diária (TCMD) de cada
111 isolado. As avaliações foram realizadas até o 6º dia, quando um dos isolados preencheu
112 totalmente a placa de Petri. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente
113 casualizado com quatro repetições por isolado, sendo cada repetição constituída por uma
114 placa.

115 Ao final do experimento foi realizada a caracterização cultural em meio BDA
116 observando a coloração das colônias e a cor do reverso destas, conforme a carta de cores de
117 Saccardo (1894), além da topografia (comportamento do crescimento micelial), da formação
118 de setores (análise visual e contagem do número de setores) e da produção de
119 microescleródios.

120

121 **Caracterização morfológica**

122

123 Na análise morfológica, adotaram-se os procedimentos utilizados por Than et al.
124 (2008) com modificações, caracterizando o tamanho e o formato dos conídios. Para isso,
125 colônias monospóricas dos 60 isolados foram cultivadas em meio BDA (Himedia[®]) (39 g.L⁻¹)
126 por sete dias e incubadas sob temperatura de 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 12 h. Em seguida,
127 quatro preparações microscópicas semipermanentes por isolado foram montadas e observadas
128 no microscópio óptico Olympus BX41 Laboratory Microscope (Olympus Corporation,
129 Tokyo, Kantō, JP) usando a objetiva de 40x. O microscópio foi acoplado em
130 microcomputador para o procedimento de captura das imagens pelo programa Honestech
131 TVR 2.5 (Honestech, Inc., Austin, TX, USA). Posteriormente, o comprimento (C) e largura
132 (L) de 100 conídios, por isolado, foram medidos utilizando o software Motic Images Plus 2.0
133 (Motic China Group Co., Ltd, Xiamen, Fujian, CHN). Com esses dois dados foi calculada a
134 relação comprimento/largura (C/L). A partir das imagens fotografadas, procedeu-se a
135 avaliação dos formatos de 100 conídios por isolado de acordo com a descrição de Sutton
136 (1980, 1992) e a escala proposta por Tozze Júnior (2007), em que o formato 1 é reto,
137 fusiforme, com ápices afilados; o formato 2 é reto, oblongo, com ápices arredondados; o
138 formato 3 é reto, clavado, afilado em uma extremidade e redondo na outra e o formato 4 é
139 reto, com constrição. Os resultados foram transformados em porcentagens para cada formato
140 de conídios apresentado por isolado (Figura 2).

141

142 **Caracterização bioquímica**

143

144 A habilidade dos isolados em utilizar ácido cítrico ou tartarato de amônio como fonte
145 de carbono foi avaliada em meio de cultura de acordo com Lynch et al. (1981), Bridge (1985)
146 e Waller et al. (1993) com adaptações. Utilizou-se o meio C de Ayers et al. (1919) modificado

147 (NH₄H₂PO₄: 1 g; KCl: 0,2 g; MgSO₄.7H₂O: 0,2 g; água destilada: 1000 mL) e suplementado
148 com 17 g de ágar. A cada combinação do meio C + ácido cítrico e meio C + tartarato de
149 amônio foi adicionado 10 g de cada reagente e 50 mg de púrpura de bromocresol (Waller et
150 al., 1993; Bridge et al., 2008).

151 O pH dos meios foi ajustado para 6,5 antes da esterilização. Para o teste, discos (4 mm
152 de diâmetro) de meio C (modificado e suplementado com ágar e púrpura de bromocresol)
153 contendo estruturas fúngicas do fitopatógeno foram transferidos das bordas da colônia com
154 sete dias de idade. As placas, após repicagem, foram mantidas à temperatura de 25 ± 1 °C e
155 fotoperíodo de 12 h. A avaliação do uso das fontes exclusiva de carbono foi realizada aos sete
156 dias após a instalação do experimento, visualizando o crescimento micelial através da
157 mudança de coloração do meio de cultura (da cor púrpura para a cor amarela). O
158 delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo que cada unidade
159 experimental foi constituída por uma placa com o meio C + tartarato de amônio ou ácido
160 cítrico.

161

162 **Caracterização patogênica**

163

164 No teste de patogenicidade foram utilizadas frutas sadias da cv. Pacovan no estágio de
165 maturação comercial II. As frutas foram, previamente, lavadas com água corrente e sabão e,
166 posteriormente, imersas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 3 min. Em seguida,
167 procedeu-se a lavagem em água destilada esterilizada por 2 min e secagem com papel toalha.
168 Os inóculos foram obtidos pelo cultivo dos 60 isolados monospóricos em meio BDA durante
169 sete dias a 27 ± 1 °C sob luz contínua (Than et al., 2008). Os conídios foram removidos de
170 cada placa de Petri pela deposição de 20 mL de água destilada, com uma alça de Drigalski.

171 Depois foram filtrados em camada dupla de gaze esterilizada, contados em hemacitômetro e
172 ajustados para a concentração de 10^6 esporos.mL⁻¹ (Than et al., 2008).

173 As frutas foram depositadas em bandejas plásticas forradas com papel toalha e
174 inoculadas com e sem fermento em duas regiões equidistantes localizadas na superfície da
175 banana (próximas do pedúnculo e do ápice, respectivamente). Os ferimentos, com 3 mm de
176 profundidade, foram realizados com uma microagulha estéril. Em seguida, foi depositada 30
177 µL de suspensão de conídios sobre local do ferimento. O mesmo procedimento foi realizado
178 no tratamento sem ferimento. Em relação ao tratamento controle, neste depositou-se 30 µL de
179 água destilada esterilizada sobre a superfície das frutas. Após a inoculação, as frutas foram
180 mantidas em sala de incubação à temperatura ambiente de laboratório (27 ± 2 °C) em regime
181 de fotoperíodo alternado de 12 horas, sendo previamente mantidas em câmara úmida por 24
182 horas. As avaliações de severidade começaram no 3° dia após a inoculação, medindo-se as
183 lesões, em dois sentidos diametralmente opostos, com uma régua milimetrada. As leituras
184 estenderam-se até o 6° dia. Com os dados diários de severidade obteve-se a área abaixo da
185 curva de progresso da doença (AACPD). O delineamento experimental foi inteiramente
186 casualizado com quatro repetições para cada tratamento e a parcela experimental foi
187 representada por uma fruta inoculada em dois pontos, calculando o diâmetro médio diário da
188 lesão por fruta.

189

190 **Extração do DNA de isolados de *C. musae***

191

192 A extração do DNA genômico dos 60 isolados monospóricos foi realizada de acordo
193 com o protocolo de Schäfer & Wöstemeyer (1992) modificado por Junghans et al. (1998). Os
194 isolados foram cultivados em meio BDA durante sete dias à temperatura de 25 ± 1 °C e
195 fotoperíodo de 12 h. O precipitado foi ressuscitado em 50 µL de água Milli-Q® (EMD

196 MilliporeTM, Billerica, MA, USA) e adicionou-se 0,5 µg/mL de RNase. A quantificação do
197 DNA foi feita em gel de agarose 0,8% corado com SyBR[®] Gold Nucleic Acid Gel Stain pela
198 comparação visual com o marcador High DNA Mass[®] Ladder, ambos produtos da
199 InvitrogenTM (Paisley, RFW, SCT, UK) de concentração conhecida. Todas as amostras foram
200 armazenadas a -20 °C.

201

202 **Análises de ISSR-PCR**

203

204 Os isolados foram caracterizados pela técnica de ISSR-PCR (*Inter-Simple Sequence*
205 *Repeat Polymerase Chain Reaction*), utilizando três *primers*, GTG5 (5'-GTG GTG GTG
206 GTG GTG-3'), GACA (5'-GAC AGA CAG ACA GAC A-3') e 820 (5'-GTG TGT GTG
207 TGT GTG TC-3') (InvitrogenTM). A reação contendo 100 ng de DNA foi realizada com 25 µL
208 do tampão 10x para PCR, 0,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada um dos quatro dNTP, 0,5 µM
209 de cada um dos oligonucleotídeos e 0,04 U de Platinum[®] Taq DNA Polymerase High Fidelity
210 (InvitrogenTM). A PCR foi realizada em termociclador com o programa: desnaturação inicial
211 95 °C por 5 min, 30 ciclos de 94 °C por 30 s, 45 °C (820) ou 52 °C (GTG5 e GACA) por 45 s,
212 72 °C por 2 min e uma extensão final de 72 °C por 7 min. Os produtos da PCR foram
213 analisados em gel de agarose 1,5%, em tampão 1x Tris-acetato EDTA (40 mM Tris-acetato, 1
214 mM EDTA) por meio de eletroforese a 100 V por 2 h e visualizados em fotodocumentador
215 após coloração com SyBR[®] Gold Nucleic Acid Gel Stain. Os tamanhos dos fragmentos
216 amplificados foram estimados por comparação com o marcador molecular 1 Kb Plus DNA[®]
217 Ladder (InvitrogenTM).

218

219 **Análise dos dados ISSR-PCR**

220

221 As bandas formadas foram analisadas manualmente visando construir uma matriz
222 binária, onde 1 indica a presença e 0 a ausência da banda em determinado local da pista para
223 cada reação de ISSR-PCR dos diferentes isolados de *C. musae*. Com base no coeficiente de
224 similaridade de Jaccard (Jaccard, 1901) e usando a análise de agrupamento UPGMA
225 (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) foi construído um dendrograma no
226 software NTSYSpc[®] vers. 2.1 for Windows (Applied Biostatistics Inc., Port Jefferson, NY,
227 USA).

228

229 **Análise dos dados**

230

231 As análises dos dados foram conduzidas em duas etapas: inicialmente, para cada
232 variável verificou-se a adequabilidade dos resíduos às pressuposições da distribuição normal.
233 Confirmando essa adequabilidade, procedeu-se a análise de variância univariada que foi
234 utilizada para identificar grupos de isolados dentro de cada variável. Os valores de
235 crescimento micelial foram ajustados ao modelo de regressão linear simples ($y = a + b.x$),
236 tendo tempo (em dias) como variável independente e crescimento micelial (em cm) como
237 variável dependente. A TCMD (cm.dia^{-1}) foi estimada pelo parâmetro “*b*” da equação de
238 regressão. Em relação aos dados de morfometria de conídios, para cada isolado,
239 primeiramente foi calculado o valor médio e o intervalo de confiança ($P = 0,05$). A taxa de
240 crescimento micelial diária (TCMD), comprimento, largura e relação C/L dos conídios, área
241 abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de frutas inoculadas com e sem ferimentos
242 foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por meio do teste
243 de agrupamento de Scott-Knott (Scott-Knott, 1974) ($P = 0,05$). Para este procedimento,
244 utilizou-se o programa estatístico Sisvar versão 5.0 (Universidade Federal de Lavras, Lavras,
245 MG, BR). Adicionalmente, foi avaliada a correlação entre todas as variáveis pela análise de

246 correlação de Pearson (Pearson, 1895) ($P = 0,05$) utilizando o PROC CORR do programa
247 SAS version 8.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

248

249 **RESULTADOS**

250

251 **Caracterização fisiológica e cultural**

252

253 As médias obtidas com crescimento micelial em meio BDA, além das características
254 culturais que foram analisados e agrupados estão apresentadas na Tabela 1. Os isolados de *C.*
255 *musae* diferiram quanto à taxa de crescimento micelial diária (TCMD) obtidas no decorrer de
256 seis dias de avaliação, com a formação três grupos pelo teste de Scott-Knott ($P = 0,05$) e
257 todos os isolados apresentaram crescimento médio superior a $1,0 \text{ cm.dia}^{-1}$. Os isolados CMM
258 3122 e CMM 3231 foram os que tiveram as maiores taxas de crescimento micelial ($1,63$
259 cm.dia^{-1}), enquanto que o isolado CMM 3194 foi o que apresentou o menor valor ($1,21$
260 cm.dia^{-1}).

261 Na caracterização cultural, para os 60 isolados de *Colletotrichum musae* houve
262 variação no que diz respeito à coloração das colônias. Foi possível fazer a separação em três
263 grupos de coloração que variou de branca a salmão, alguns isolados apresentaram o centro de
264 cor branca, enquanto que outros demonstraram a cor salmão com nuances cinzas-escuras. Da
265 mesma forma, comportou-se o reverso da placa. Houve predominância de micélio aéreo de
266 coloração salmão, com a presença de massas de conídios de cor laranja, seguido de creme e
267 branca, que estiveram presentes em menor quantidade dos isolados. Os isolados CMM 3125,
268 CMM 3129, CMM 3148, CMM 3188, CMM 3199 destacaram-se por apresentar coloração
269 tipicamente creme e salmão, porém, com o envelhecimento natural das colônias, estes
270 adquiriam em suas bordas a coloração cinza-escura. A topografia da colônia foi geralmente

271 aérea e, em poucos isolados, observou-se topografia rala, a exemplo, dos isolados CMM
272 3120, CMM 3127, CMM 3129 e CMM 3183.

273 As colônias de *C. musae* desenvolveram micélios em setores regulares, que
274 acompanharam o crescimento radial normal da colônia. A formação dos setores miceliais
275 apareceu em alguns isolados, independente da área de coleta. Geralmente, foi observado um
276 único setor por colônia (placa), enquanto que alguns isolados apresentaram mais de um por
277 placa, com valor máximo de oito setores formados, como nos isolados CMM 3142 e CMM
278 3161. A presença de microescleródios foi observada em 44 isolados (73,3%) e não houve a
279 formação de setas, em meio de cultura, para nenhum isolado.

280

281 **Caracterização morfológica**

282

283 Os dados referentes à caracterização morfológica dos conídios de *C. musae* estão
284 apresentados na Figura 2 (formato) e Tabela 2 (tamanho), respectivamente. Os conídios
285 apresentaram-se hialinos, sem a presença de septos, unicelulares, retos, obtusos nas
286 extremidades e alguns truncados na base, com presença de três formas predominantes:
287 cilíndricas, elipsóides e clavadas.

288 Tomando por base a classificação proposta por Tozze Júnior (2007), o formato de
289 conídios que mais se destacou foi o 2 (reto, oblongo e ápices arredondados) com 63,2% do
290 total de conídios, seguido pelo formato 3 (reto, clavado, afilado em uma extremidade e
291 redondo na outra) com 26,0% de frequência. Os formatos 4 (reto, com constrição) e 1 (reto,
292 fusiforme, com ápices afilados) apresentaram 9,4 e 1,4%, respectivamente.

293 Em relação à aplicação do intervalo de confiança ($P = 0,05$), para o comprimento os
294 valores médios variaram de 12,2 a 17,8, para largura a variação foi de 3,8 a 6,1, enquanto que
295 a relação C/L foi de 2,4 a 4,5. Houve diferença significativa entre as variáveis comprimento,

296 largura e relação comprimento/largura de acordo com o teste de Scott-Knott ($P = 0,05$),
297 permitindo subdividir os isolados em nove, treze e doze grupos, respectivamente. Os limites
298 inferior e superior do comprimento dos conídios foram 9,3 e 30,2 μm , enquanto que para a
299 largura, os valores foram 2,6 e 12,6 μm e para a relação C/L, 1,1 e 7,5, com média geral ($n =$
300 6000) de 15,0 x 4,9 μm e 3,1, para comprimento, largura e relação C/L, respectivamente.

301

302 **Caracterização bioquímica**

303

304 Os testes bioquímicos estão indicados na Tabela 2 e mostraram que 53 isolados de
305 *Colletotrichum* foram capazes de utilizar completamente tartarato de amônio como fonte
306 exclusiva de carbono. A exceção foram para os isolados CMM 3183, CMM 3187, CMM 3194
307 (área 2) e CMM 3218 (área 3). Os isolados CMM 3132, CMM 3163 e CMM 3226 para esta
308 combinação de meio mostraram resultado variável. Em relação à utilização de ácido cítrico,
309 todos os isolados, com exceção do CMM 3219, que apontou resultado variável, não foram
310 capazes de metabolizar essa fonte exclusiva de carbono, ou seja, não cresceram o suficiente
311 na combinação de meio para produzir qualquer mudança de cor, apesar do crescimento fraco
312 que os isolados tiveram nessa combinação.

313

314 **Caracterização patogênica**

315

316 Os resultados referentes ao teste de patogenicidade em frutas de bananeira com e sem
317 ferimentos estão representados na Tabela 2. Todos os isolados (100%) foram patogênicos em
318 bananas quando inoculados com ferimento e 20 isolados (33,3%) não estabeleceram infecção
319 quando inoculados sem ferimentos.

320 As bananas inoculadas apresentaram sintomas típicos da antracnose após incubação a
321 27 ± 2 °C, por seis dias. Esses sintomas foram lesões necróticas de coloração marrom-escura
322 que se tornaram deprimidas conforme a colonização do tecido, algumas de formato circulares
323 e outras que eram delimitadas pelas quinas da casca. Posteriormente, as lesões eram tomadas
324 pelo sinal do fitopatógeno, com a formação de pequenas pontuações (acérvulos) com a
325 presença de massas de esporos de coloração alaranjada. As frutas que foram inoculadas
326 apenas com água destilada esterilizada, utilizadas como tratamento controle, não
327 apresentaram sintomas no decorrer da condução do experimento.

328 A AACPD não foi estimada para aqueles 20 isolados que não conseguiram causar
329 doença no tratamento sem ferimentos. Para os demais isolados, a AACPD variou de 2,11
330 (CMM 3142) a 5,12 (CMM 3197) nas inoculações com ferimento e 0,44 (CMM 3129) a 3,10
331 (CMM 3125) para as inoculações sem ferimento, indicando a existência de variação na
332 agressividade entre os isolados. De acordo com o teste de Scott-Knott ($P = 0,05$) houve
333 diferenças significativas entre os isolados, permitindo subdividi-los em 2 e 2 grupos para as
334 inoculações realizadas com e sem ferimentos, respectivamente.

335 Foram constatadas correlações significativas ($P = 0,05$ e $P = 0,01$) entre algumas
336 variáveis analisadas (Tabela 3). O maior valor de correlação positiva significativa foi
337 verificado entre o comprimento dos conídios e a relação C/L ($P = 0,01$; $r = 0,63$), enquanto
338 que a maior correlação significativa e negativa foi entre a largura e relação C/L dos conídios
339 ($P = 0,01$; $r = -0,69$). As duas principais variáveis relacionadas ao tamanho dos conídios
340 afetaram de maneira positiva e negativa, respectivamente, a relação C/L. Não houve
341 correlação evidente entre a relação C/L e a AACPD CF ($r = -0,24$). Esse fato também foi
342 observado por Sanders e Korsten (2003) em abacate ($r = 0,36$) e manga ($r = 0,29$) inoculadas
343 com *Colletotrichum gloeosporioides*.

344

345 **Análise dos dados ISSR-PCR**

346

347 O dendrograma construído pela análise de agrupamento UPGMA das bandas de DNA
348 de *C. musae*, em combinação com os três *primers* (GTG5, GACA e 820) e pelo marcador
349 molecular ISSR-PCR revelou a formação de três grupos de isolados a 53,5% de similaridade
350 pelo coeficiente de Jaccard (Figura 3). O grupo I foi formado pelos provenientes de
351 Machados; o grupo II, pelos isolados de São Vicente Férrer, enquanto que o grupo III foi
352 composto por aqueles obtidos de Vicência.

353 A maioria dos isolados do primeiro grupo apresenta 100,0% de similaridade no
354 tamanho dos fragmentos amplificados e mais de 81,0% de similaridade com os isolados
355 CMM 3120 e CMM 3122 provenientes de Vicência. A maioria dos isolados dos outros dois
356 grupos formados também mostraram 100,0% de similaridade no tamanho dos fragmentos.
357 Contrariamente, o isolado CMM 3136 procedente de Vicência ficou distante dos outros
358 isolados de *C. musae*, embora, a técnica, com a utilização do marcador molecular ISSR-PCR,
359 permitiu agrupar por origem geográfica os isolados da espécie em estudo.

360

361 **DISCUSSÃO**

362

363 Os resultados encontrados nesse trabalho para alguns isolados, como CMM 3127,
364 CMM 3144, CMM 3146, CMM 3194, CMM 3202 e CMM 3235 se aproximam com as taxas
365 de crescimento micelial de *C. musae* obtidas por Photita et al. (2005) trabalhando com
366 isolados dessa mesma espécie cultivados em meio BDA a temperatura de 25 °C.

367 Coloração semelhante à relatada nesse trabalho foram encontrados por Zakaria et al.
368 (2009) e Abd-Elsalam et al. (2010), onde observaram inicialmente que as colônias
369 apresentaram o micélio de cor branca, tornando-se alaranjada com a idade. Photita et al.

370 (2005) verificaram que em todos os isolados, o micélio aéreo foi ralo e de coloração branca,
371 porém com abundante massa de conídios, o que concorda em parte com este trabalho. Por sua
372 vez, Couto & Menezes (2004) detectaram a presença de isolados com a coloração branca,
373 cinza-clara e cinza-escura, com reverso similar, em isolados de *C. musae*, provenientes de seis
374 municípios do Estado de Pernambuco.

375 Ryan et al. (2002) relatam que a formação de setores em *Metarhizium anisopliae*
376 (Metschn.) Sorokīn pode resultar em um crescimento micelial atípico do fungo, causando
377 diversas alterações fisiológicas, como a baixa ou nenhuma produção de esporos, além de
378 mudanças na capacidade de produzir enzimas e metabólitos secundários. Roca-Magallanes et
379 al. (2004) trabalhando com o complexo *Glomerella-Colletotrichum* associado à sementes de
380 algodão verificaram que as culturas sempre mantinham as mesmas características fenotípicas
381 de formação de setores, apesar das sucessivas transferências para novos meios de cultura. No
382 presente trabalho, foi verificado esse efeito de formação de setores nas repicagens periódicas.

383 Segundo Tozze Júnior & Massola Júnior (2007), a presença de microescleródios é
384 uma ferramenta bastante útil para classificação de espécies de *Colletotrichum* que produzem
385 esta estrutura, como é o caso de *C. coccodes* (Wallr.) S. Hughes, onde as colônias usualmente
386 são cobertas por microescleródios. A detecção dessa estrutura de sobrevivência, em meios de
387 cultura, é importante para o manejo de doenças causadas por espécies de *Colletotrichum*, uma
388 vez que a observação *in vitro* sugere a ideia do comportamento de sobrevivência dessas
389 espécies, como é o caso de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wilson. que pode
390 sobreviver como saprófita, por até 18 meses, principalmente na forma de microescleródios
391 (Costa et al., 2003).

392 O comportamento variável de determinadas características fisiológicas e culturais de
393 uma mesma espécie de *Colletotrichum* pode ser explicada pela condição heterozigótica para
394 um determinado caráter das populações de biótipos que constituem essa espécie (Couto &

395 Menezes, 2004). Esse comportamento é governado por diversos fatores que acabam
396 influenciando as características fenotípicas da espécie, de acordo com as condições
397 ambientais de cultivo em que esta foi colocada, como o meio de cultura utilizado, a duração
398 do fotoperíodo, a umidade relativa do ar, a biossíntese de metabólitos secundários e o tempo
399 de incubação. Para Pereira (2009), mesmo com a padronização desses fatores, o fitopatógeno
400 está sujeito a intensa variabilidade governada tanto por pressão do meio ambiente quanto por
401 características inerentes ao fitopatógeno e outro ponto importante, é que algumas dessas
402 características, muitas vezes são subjetivas, sendo, portanto, dependentes da interpretação de
403 cada pesquisador.

404 Os formatos de conídios observados neste trabalho, com predominância de conídios
405 retos, cilíndricos e com ápices arredondados, assim como, os valores encontrados para as
406 dimensões médias de comprimento, largura e relação C/L, aliado aos valores dos intervalos de
407 confiança para estas três variáveis, foram semelhantes aos encontrados por outros autores para
408 a espécie *C. musae* (Quimio, 1976; Sutton, 1980, 1992; Couto & Menezes, 2004; Photita et
409 al., 2005; Zakaria et al., 2009; Abd-Elsalam et al., 2010).

410 As espécies de *Colletotrichum*, quando cultivadas em meio de cultura, muitas vezes,
411 produzem formas intermediárias de conídios e variam consideravelmente o aspecto da colônia
412 (Sutton, 1992; Freeman et al., 1998; Cannon et al., 2000). Muitas das características
413 morfológicas das espécies do gênero *Colletotrichum* são extremamente plásticas e variáveis,
414 dependendo principalmente das condições culturais e ambientais, que por sua vez, raramente
415 são padronizadas (Sutton, 1992; Freeman et al., 1998).

416 De acordo com Waller et al. (1993) e Bridge et al. (2008), a alteração da cor no meio
417 de cultura indica que o isolado foi capaz de metabolizar a fonte de carbono decorrente da
418 oxidação de cada carboidrato ao seu respectivo ácido. Esse teste bioquímico é aplicado com
419 êxito em *C. kahawae* Waller & Bridge, agente causal do CBD (*Coffee Berry Disease*) em

420 bagas de cafeeiro, uma vez que detecta a incapacidade desta espécie em utilizar tanto tartarato
421 de amônio quanto ácido cítrico como única fonte de carbono, diferenciando-a de outras
422 espécies de *Colletotrichum* que atacam culturas perenes em países tropicais, a exemplo da
423 mangueira, citros e do próprio cafeeiro (Derso & Waller, 2003). Para Bridge et al. (2008),
424 essa incapacidade, provavelmente seja uma característica específica da espécie *C. kahawae*.
425 Waller et al. (1993) ainda relacionaram indiretamente essa incapacidade de metabolização
426 com a patogenicidade e diretamente a uma redução da habilidade saprofítica.

427 Couto et al. (2002), trabalhando com inoculações cruzadas em diversas cultivares de
428 banana, observaram que os isolados de *C. musae* obtidos da cv. Pacovan apresentaram
429 comportamento diferenciado entre si quando inoculados na própria cultivar e até nem
430 causaram doença como foi observada na cv. Comprida. Fato semelhante foi observado no
431 presente trabalho, em inoculações com a cv. Pacovan. Os ferimentos realizados na casca da
432 banana podem ter facilitado a entrada do fitopatógeno, promovendo o processo de infecção e
433 colonização, já que muitas doenças são iniciadas através de ferimentos. Para aquelas frutas do
434 tratamento sem ferimentos, nas quais os isolados não conseguiram causar infecções, a
435 ausência de sintomas, entretanto, não significa que o fitopatógeno não iniciou o processo
436 infeccioso.

437 Nas doenças causadas por espécies de *Colletotrichum*, a infecção tem início com a
438 germinação do esporo e posterior formação de apressórios sobre as frutas verdes. Estes
439 aderem na superfície do hospedeiro, emitem hifas subcuticulares e penetram nos tecidos da
440 fruta (Prusky, 1996; Perfect et al., 1999). Após a penetração, ocorre a chamada colonização
441 subcuticular intramural, como é o caso de *C. musae* (Perfect et al., 1999). Em seguida, a hifa
442 cessa o crescimento, permanecendo quiescentes por longos períodos. O desenvolvimento
443 necrotrófico dessas espécies ocorre somente quando se quando se inicia o processo de
444 maturação e senescência das frutas (Prusky & Lichter, 2007).

445 Este é o primeiro estudo relatando a diversidade genética em populações de *C. musae*
446 associadas à antracnose da banana via ISSR-PCR. Essa técnica pode ser uma alternativa
447 viável para estudos de variabilidade de *C. musae* visto que fungos desse gênero, quando
448 analisados em relação à morfologia, testes bioquímicos e fisiologia são bastantes variáveis e
449 mostram-se bastantes influenciados pelas condições ambientais, como os resultados obtidos
450 neste estudo. Medeiros et al. (2010) também usaram essa técnica para estudar a variabilidade
451 de isolados de *Colletotrichum* provenientes de vários hospedeiros e os marcadores ISSR
452 foram eficientes em demonstrar a variabilidade dos isolados em estudo, assim como
453 conseguiram diferenciar as espécies *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* J.H. Simmonds e *C.*
454 *sublineola* Henn. ex Sacc. & Trotter em seis grupos já discriminados por *primers* específicos
455 com elevado nível de similaridade no tamanho dos fragmentos amplificados para a maioria
456 dos isolados.

457 Esses resultados mostram que os isolados de *C. musae* podem ser discriminados
458 quanto à sua origem geográfica por apresentarem similaridade genética entre si, estando
459 correlacionados com a baixa taxa de disseminação do fitopatógeno a longas distâncias, por
460 considerar-se que espécies pertencentes ao gênero *Colletotrichum* são quase que
461 exclusivamente dispersos via respingos de chuva. Neste caso, constata-se que há baixo fluxo
462 gênico entre esses isolados.

463

464 **AGRADECIMENTOS**

465

466 Os autores agradecem à Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo apoio
467 institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
468 pela concessão de bolsa de mestrado a Paulo César das Mercês Santos (processo n.º:
469 133094/2009-0).

470

471 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

472

473 Abd-Elsalam, K. A., Roshdy, S., Amin, O. E., & Rabani, M. (2010). First morphogenetic
474 identification of the fungal pathogen *Colletotrichum musae* (Phyllachoraceae) from imported
475 bananas in Saudi Arabia. *Genetics and Molecular Research*, 9, 2335–2342.

476

477 Ayers, S. H., Rupp, P., & Johnson, W. T., Jr. (1919). *A study of the alkali-forming bacteria*
478 *found in milk* — *Bulletin 782*. Washington, D. C.: USDA.

479

480 Bridge, P. D. (1985). An evaluation of some physiological and biochemical methods as an aid
481 to the characterization of species of *Penicillium* subsection *Fasciculata*. *Journal of General*
482 *Microbiology*, 131, 1887–1895.

483

484 Bridge, P. D., Waller, J. M., Davies, D., & Buddie, A. G. (2008). Variability of
485 *Colletotrichum kahawae* in relation to other *Colletotrichum* species from tropical perennial
486 crops and the development of diagnostic techniques. *Journal of Phytopathology*, 156, 274–
487 280.

488

489 Cannon, P. F., Bridge, P. D., & Monte, E. (2000). Linking the past, present and future of
490 *Colletotrichum* systematics. (In D. Prusky, S. Freeman, & M. B. Dickman (Eds.),
491 *Colletotrichum: Host specificity, pathology and host-pathogen interaction* (pp. 1–20). St.
492 Paul-MN, USA: APS Press.).

493

494 Castellani, A. (1939). Viability of some pathogenic fungi in distilled water. *Journal of*

495 *Tropical Medicine and Hygiene*, 42, 225–226.

496

497 Cordeiro, Z. J. M., & Matos, A. P. (2005). Doenças da banana. *Informe Agropecuário*, 26,
498 12–16.

499

500 Cordeiro, Z. J. M., Matos, A. P., & Kimati, H. (2005). Doenças da bananeira. (In H. Kimati,
501 L. Amorim, J. A. M. Rezende, A. Bergamin Filho, & L. E. A. Camargo (Eds.), *Manual de*
502 *fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas* (pp. 99–117). 4. ed. v. 2. São Paulo-SP, Brasil:
503 Agronômica Ceres.).

504

505 Costa, R. V., Casela, C. R., Zambolim, L., & Ferreira, A. S. (2003). A antracnose do sorgo.
506 *Fitopatologia Brasileira*, 28, 345–354.

507

508 Couto, E. F., & Menezes, M. (2004). Caracterização fisiomorfológica de isolados de
509 *Colletotrichum musae*. *Fitopatologia Brasileira*, 29, 406–412.

510

511 Couto, E. F., Menezes, M., & Coêlho, R. S. B. (2002). Avaliação da patogenicidade e
512 diferenciação enzimática em meio sólido específico de isolados de *Colletotrichum musae*.
513 *Summa Phytopathologica*, 28, 260–266.

514

515 Derso, E., & Waller, J. M. (2003). Variation among *Colletotrichum* isolates from diseased
516 coffee berries in Ethiopia. *Crop Protection*, 22, 561–565.

517

- 518 FAOSTAT. *Preliminary 2009 Data now Available for Selected Countries and Products*.
519 (2011). Retirado Janeiro 30, 2011 de
520 <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
521
- 522 Freeman, S., Katan, T., & Shabi, E. (1998). Characterization of *Colletotrichum* species
523 responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease*, 82, 596–605.
524
- 525 Freeman, S., Redman, R. S., Grantham, G., & Rodriguez, R. J. (1997). Characterization of a
526 linear DNA plasmid from the filamentous fungal plant pathogen *Glomerella musae*
527 [Anamorph: *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx.]. *Current Genetics*, 32, 152–156.
528
- 529 Gasparotto, L., & Pereira, J. C. R. (2010). Introdução. (In L. Gasparotto, & J. C. R. Pereira
530 (Eds.), *A cultura da bananeira na região norte do Brasil* (pp. 11–12). Brasília-DF, Brasil:
531 Embrapa Informação Tecnológica.).
532
- 533 Ho, W.-C., & Ko, W.-H. (1997). A simple method for obtaining single-spore isolates of fungi.
534 *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 38, 41–44.
535
- 536 IBGE. SIDRA. *Produção Agrícola Municipal (2009)*. Retirado Janeiro 19, 2011 de
537 <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=t&o=11>
538
- 539 Jaccard, P. (1901). Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et
540 du Jura. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, 37, 547–579.
541

- 542 Junghans, D. T., Gomes, E. A., Guimarães, W. V., Barros, E. G., & Araújo, E. F. (1998).
543 Genetic diversity of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* based on RAPD-PCR
544 analysis. *Mycorrhiza*, 7, 243–248.
- 545
- 546 Lichtemberg, L. A. (1999). Colheita e pós-colheita da banana. *Informe Agropecuário*, 20, 73–
547 90.
- 548
- 549 Lim, J., Lim, T. H., & Cha, B. (2002). Isolation and identification of *Colletotrichum musae*
550 from imported bananas. *The Plant Pathology Journal*, 18, 161–164.
- 551
- 552 Lynch, J. M., Slater, J. H., Bennett, J. A., & Harper, S. H. T. (1981). Cellulose activities of
553 some aerobic micro-organisms isolate from soil. *Journal of General Microbiology*, 127, 231–
554 236.
- 555
- 556 Medeiros, L. V., Maciel, D. B., Medeiros, V. V., Kido, L. M. H., & Oliveira, N. T. (2010).
557 *pelB* gene in isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from several hosts. *Genetics and*
558 *Molecular Research*, 9, 661–673.
- 559
- 560 Pearson, K. (1895). Note on regression and inheritance in the case of two parents.
561 *Proceedings of the Royal Society of London*, 58, 240–242.
- 562
- 563 Pereira, W. V. (2009). *Caracterização e identificação molecular de espécies de*
564 *Colletotrichum* associadas à antracnose da goiaba no Estado de São Paulo. Dissertação,
565 Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- 566

- 567 Peres, N. A. R., Kuramae, E. E., Dias, M. S. C., & Souza, N. L. (2002). Identification and
568 characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. *Journal of*
569 *Phytopathology*, *150*, 128–134.
- 570
- 571 Perfect, S. E., Hughes, H. B., O'Connell, R. J., & Green, J. R. (1999). *Colletotrichum*: a
572 model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. *Fungal Genetics and*
573 *Biology*, *27*, 186–198.
- 574
- 575 Photita, W., Taylor, P. W. J., Ford, R., Hyde, K. D., & Lumyong, P. (2005). Morphological
576 and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand.
577 *Fungal Diversity*, *18*, 117–133.
- 578
- 579 Prusky, D. (1996). Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Annual Review of*
580 *Phytopathology*, *34*, 413–434.
- 581
- 582 Prusky, D., & Lichter, A. (2007). Activation of quiescent infections by postharvest pathogens
583 during transition from the biotrophic to the necrotrophic stage. *FEMS Microbiology Letters*,
584 *268*, 1–8.
- 585
- 586 Quimio, T. H. (1976). Variability in *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) v. Arx and its
587 significance in chemical control. *Philippine Phytopathology*, *12*, 40–50.
- 588
- 589 Riker, A. J., & Riker, R. S. (1936). Culture media. (In A. J. Riker, & R. S. Riker. *Introduction*
590 *to research on plant diseases: A guide to the principles and practice for studying various*
591 *plant-disease problems* (pp. 26–35). St. Louis-MO, USA: John S. Swift.).

- 592
- 593 Roca-Magallanes, M. G., Machado, J. C., Vieira, M. G. G. C., Davide, L. C., & Rocha, M. L.
594 M. (2004). Compatibilidade sexual e vegetativa do complexo *Glomerella-Colletotrichum*
595 associado a sementes de algodão. *Fitopatologia Brasileira*, 29, 16–20.
- 596
- 597 Ryan, M. J., Bridge, P. D., Smith, D., & Jeffries, P. (2002). Phenotypic degeneration occurs
598 during sector formation in *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Applied Microbiology*, 93,
599 163–168.
- 600
- 601 Saccardo, P. A. (1894). *Chromotaxia seu nomenclator colorum polyglottus additis*
602 *speciminibus coloratis ad usum botanicorum et zoologorum*. (Patavii: Typis Seminarii.).
- 603
- 604 Sanders, G. M., & Korsten, L. (2003). A comparative morphological study of South African
605 avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Canadian Journal of Botany*,
606 8, 877–885.
- 607
- 608 Schäfer, C., & Wöstemeyer, J. (1992). Random primer dependent PCR differentiates
609 aggressive from non-aggressive isolates of the oilseed rape pathogen *Phoma lingam*
610 (*Leptosphaeria maculans*). *Journal of Phytopathology*. 136, 124–136.
- 611
- 612 Scott, A. J., & Knott, M. (1974). A cluster analysis method for grouping means in the analysis
613 of variance. *Biometrics*, 30, 507–512.
- 614
- 615 Silva, J. R., & Cordeiro, Z. J. M. (2000). Fitossanidade na exportação de banana. (In Z. J. M.
616 Cordeiro (Org.), *Banana: Fitossanidade*. — (Embrapa Comunicação para Transferência de

- 617 *Tecnologia. Frutas do Brasil*, 8). (pp. 9–14). Cruz das Almas-BA, Brasil: Embrapa Mandioca
618 e Fruticultura; Brasília-DF, Brasil: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia.
619
- 620 Smith, B. J., & Black, L. L. (1990). Morphological, cultural, and pathogenic variation among
621 *Colletotrichum* species isolated from strawberry. *Plant Disease*, 74, 69–76.
622
- 623 Sreenivasaprasad, S., Mills, P. R., Meehan, B. M., & Brown, A. E. (1996). Phylogeny and
624 systematics of 18 *Colletotrichum* species based on ribosomal DNA spacer sequences.
625 *Genome*, 39, 499–512.
626
- 627 Sutton, B. C. (1980). *The Coelomycetes: Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and*
628 *stromata.* (Kew: Commonwealth Mycological Institute.).
629
- 630 Sutton, B. C. (1992). The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. (In J. A.
631 Bailey, & M. J. Jeger (Eds.), *Colletotrichum: Biology, pathology and control* (pp. 1–26).
632 Wallingford-OXF, United Kingdom: CAB International.).
633
- 634 Than, P. P., Jeewon, R., Hyde, K. D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O., & Taylor, P. W.
635 J. (2008). Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with
636 anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. *Plant Pathology*, 57, 562–572.
637
- 638 Tozze, H. J., Jr. (2007). *Caracterização e identificação de espécies de Colletotrichum*
639 *associadas à antracnose do pimentão (Capsicum annum) no Brasil.* Dissertação, Escola
640 Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
641

642 Tozze, H. J., Jr, & Massola, N. S., Jr. (2007). Caracterização tradicional de espécies de
643 *Colletotrichum*. (In *Workshop Regional sobre Colletotrichum 1* (6 f.). Recife-PE, Brasil:
644 Universidade Federal Rural de Pernambuco. 1 CD-ROM.

645

646 Ventura, J. A., & Hinz, R. H. (2002). Controle das doenças da bananeira. (In L. Zambolin, F.
647 X. R. Vale, A. J. A. Monteiro, & H. Costa (Eds.), *Controle de doenças de plantas: fruteiras*.
648 (pp. 839–938). v. 2. Viçosa-MG, Brasil: Suprema Gráfica e Editora Ltda.

649

650 Waller, J. M., Bridge, P. D, Black, R., & Hakiza, G. (1993). Characterization of the coffee
651 berry disease pathogens, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. *Mycological Research*, 97, 989–
652 994.

653

654 Zakaria, L., Sahak, S., Zakaria, M., & Salleh, B. (2009). Characterisation of *Colletotrichum*
655 species associated with anthracnose of banana. *Tropical Life Sciences Research*, 20, 119–125.

656

657

658

659

660

661

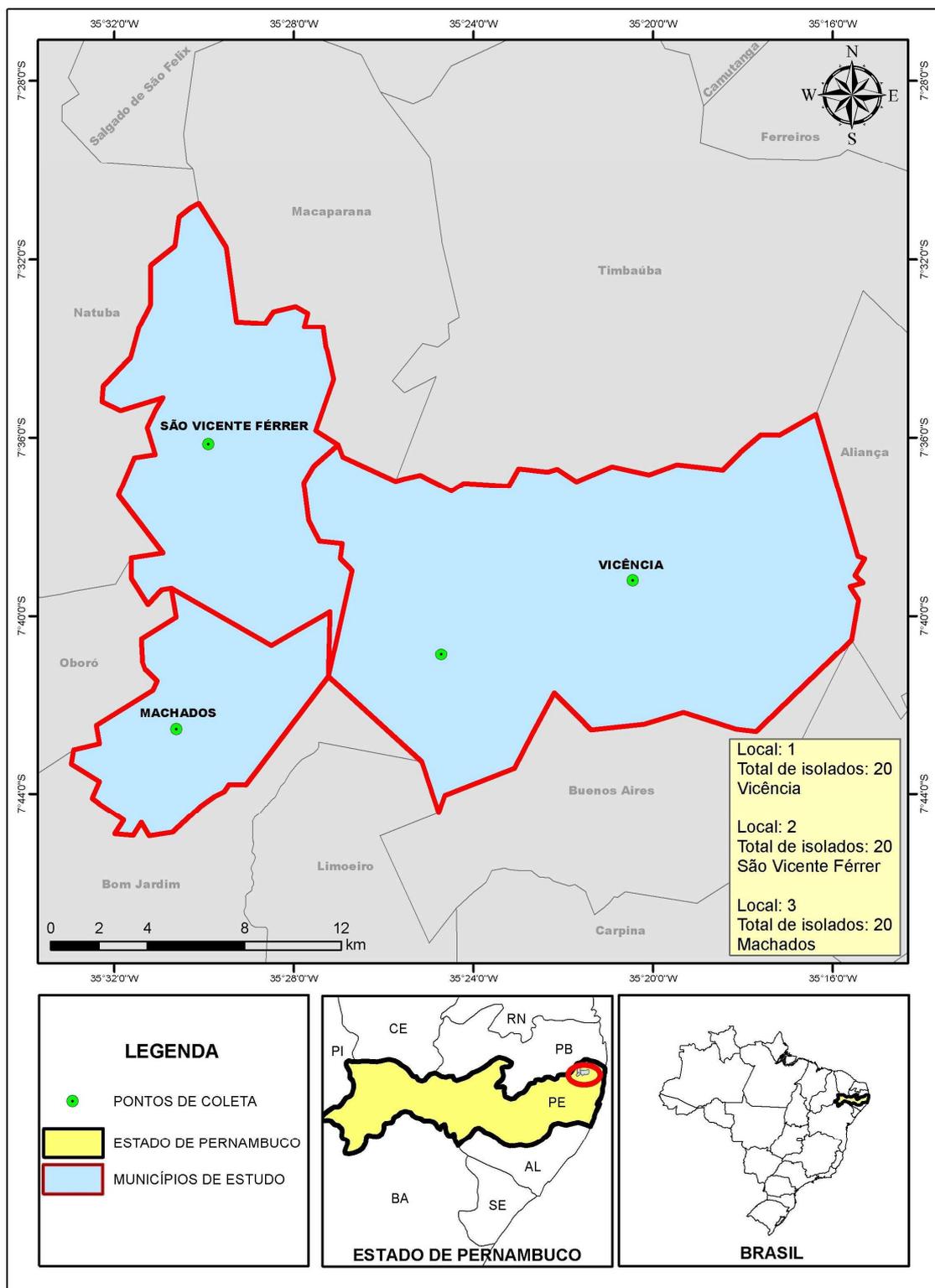
662

663

664

665

666

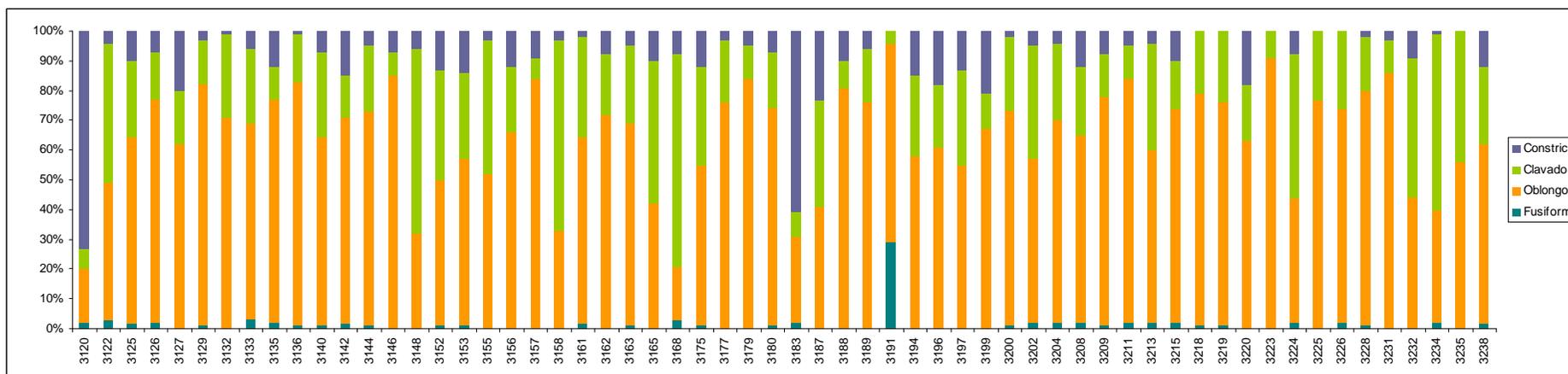


667

668 **FIGURA 1** – Mapa de localização das áreas de coleta no Estado de Pernambuco dos isolados
 669 de *Colletotrichum musae*.

670

671



672

673 **FIGURA 2** – Distribuição da frequência de formatos de conídios (% de cada classe) dos 60 isolados de *Colletotrichum musae* utilizados neste

674 estudo. Observação em 100 conídios/isolado.

675

676

677

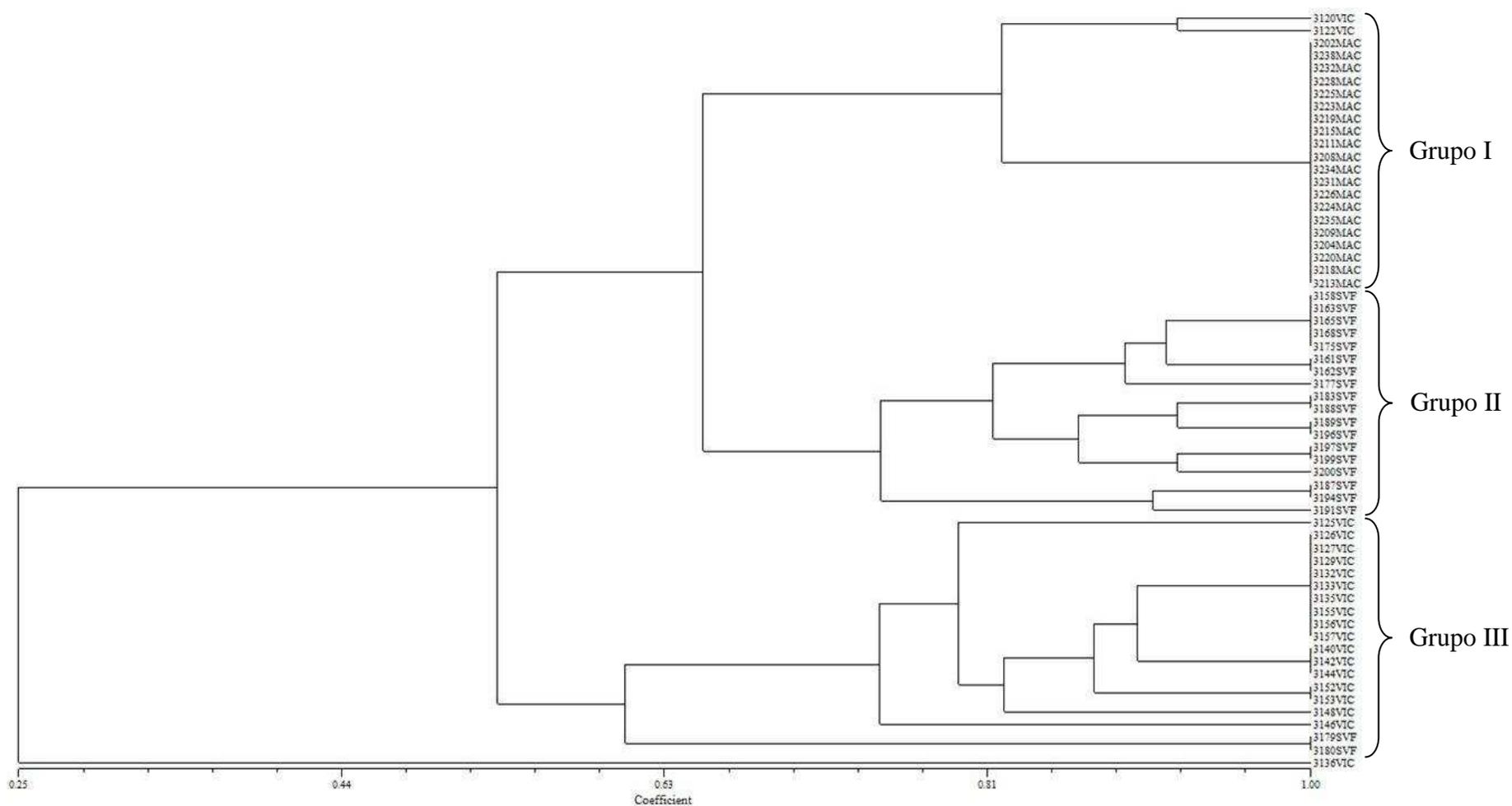
678

679

680

681

682



683

684 **FIGURA 3** - Dendrograma hierárquico com os 60 isolados de *Colletotrichum musae* gerado pela análise de agrupamento UPGMA (*Unweighted*
685 *Pair Group Method with Arithmetic Mean*) das bandas de DNA obtidas com a combinação dos três *primers* (GTG5, GACA e 820) por ISSR-
686 PCR. A escala inferior informa o valor de similaridade obtido utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard.

687 **TABELA 1** – Taxa de crescimento micelial diária (TCMD) e características culturais (coloração da colônia, cor do reverso da placa, topografia,
 688 formação de setores e de microescleródios) de isolados de *Colletotrichum musae* obtidos de banana com sintomas de antracnose e provenientes
 689 de três municípios do Estado de Pernambuco, Brasil.
 690

Isolado	LC ¹	TCMD (cm/dia) ^{2*}	Cor da colônia ³	Cor do reverso da	Topografia	Setor ⁴	Microescleródios ⁵
		BDA		colônia ³			
CMM 3120	VIC	1,44 a	Branca	Branca	Rala	1	P
CMM 3122	VIC	1,63 a	Creme	Creme	Aérea	0	A
CMM 3125	VIC	1,37 b	Creme	Creme	Aérea	0	P
CMM 3126	VIC	1,36 b	Branca	Branca	Aérea	0	A
CMM 3127	VIC	1,26 c	Creme	Salmão	Rala	0	A
CMM 3129	VIC	1,48 a	Salmão a Cinza	Salmão a Cinza	Rala	0	A
CMM 3132	VIC	1,51 a	Salmão	Salmão-clara	Aérea	0	P
CMM 3133	VIC	1,62 a	Salmão a Branca	Salmão	Aérea	3	P
CMM 3135	VIC	1,49 a	Branca	Creme	Aérea	5	P
CMM 3136	VIC	1,53 a	Salmão	Salmão	Aérea	0	A
CMM 3140	VIC	1,61 a	Salmão	Salmão	Aérea	0	P
CMM 3142	VIC	1,36 b	Salmão	Salmão	Aérea	8	P
CMM 3144	VIC	1,26 c	Branca	Creme	Aérea	2	A
CMM 3146	VIC	1,22 c	Branca	Creme	Aérea	0	A
CMM 3148	VIC	1,45 a	Salmão	Salmão	Aérea	1	A

CMM 3152	VIC	1,45 a	Salmão	Creme	Aérea	0	P
CMM 3153	VIC	1,47 a	Salmão	Creme	Aérea	0	P
CMM 3155	VIC	1,46 a	Salmão	Creme	Aérea	0	P
CMM 3156	VIC	1,34 b	Branca	Creme	Aérea	0	A
CMM 3157	VIC	1,58 a	Salmão	Salmão	Aérea	0	P
CMM 3158	SVF	1,58 a	Salmão	Creme	Aérea	0	P
CMM 3161	SVF	1,54 a	Salmão	Salmão	Aérea	8	P
CMM 3162	SVF	1,35 b	Creme a Branca	Salmão	Aérea	1	P
CMM 3163	SVF	1,57 a	Creme a Salmão	Salmão	Aérea	0	P
CMM 3165	SVF	1,53 a	Creme a Salmão	Creme	Aérea	0	A
CMM 3168	SVF	1,59 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	3	P
CMM 3175	SVF	1,41 b	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	A
CMM 3177	SVF	1,53 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	P
CMM 3179	SVF	1,61 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	P
CMM 3180	SVF	1,30 c	Creme a Branca	Creme a Salmão	Aérea	5	P
CMM 3183	SVF	1,60 a	Branca	Creme	Rala	0	A
CMM 3187	SVF	1,48 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	P
CMM 3188	SVF	1,49 a	Salmão	Salmão	Aérea	0	P
CMM 3189	SVF	1,55 a	Branca	Creme	Aérea	0	P
CMM 3191	SVF	1,45 a	Salmão	Salmão	Aérea	7	P
CMM 3194	SVF	1,21 c	Branca	Salmão	Aérea	1	A

CMM 3196	SVF	1,47 a	Salmão	Creme	Aérea	0	P
CMM 3197	SVF	1,53 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	A
CMM 3199	SVF	1,48 a	Salmão	Salmão	Aérea	0	P
CMM 3200	SVF	1,40 b	Branca	Creme	Aérea	0	P
CMM 3202	MAC	1,23 c	Salmão	Salmão	Aérea	4	P
CMM 3204	MAC	1,39 b	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	P
CMM 3208	MAC	1,59 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	P
CMM 3209	MAC	1,59 a	Salmão	Salmão	Aérea	0	P
CMM 3211	MAC	1,42 b	Salmão	Salmão a Creme	Aérea	0	P
CMM 3213	MAC	1,57 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	2	P
CMM 3215	MAC	1,40 b	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	1	P
CMM 3218	MAC	1,56 a	Creme a Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	A
CMM 3219	MAC	1,52 a	Creme a Salmão	Creme a Salmão	Aérea	2	P
CMM 3220	MAC	1,55 a	Branca a Salmão	Creme a Salmão	Aérea	4	P
CMM 3223	MAC	1,45 a	Creme	Creme a Salmão	Aérea	4	P
CMM 3224	MAC	1,39 b	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	P
CMM 3225	MAC	1,48 a	Salmão	Salmão	Aérea	5	P
CMM 3226	MAC	1,59 a	Salmão	Salmão	Aérea	1	P
CMM 3228	MAC	1,52 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	3	P
CMM 3231	MAC	1,63 a	Salmão	Salmão	Aérea	0	P
CMM 3232	MAC	1,55 a	Salmão	Creme a Salmão	Aérea	1	P

CMM 3234	MAC	1,55 a	Branca a Salmão	Creme a Salmão	Aérea	4	P
CMM 3235	MAC	1,26 c	Branca	Creme	Aérea	6	P
CMM 3238	MAC	1,51 a	Creme a Salmão	Creme a Salmão	Aérea	0	A

691 ¹LC: Local de coleta — VIC: Vicência (PE); SVF: São Vicente Férrer (PE); MAC: Machados (PE).

692 ²Taxa de crescimento micelial diária dos isolados estimada com os dados de leitura de seis dias em meio BDA cultivados a 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 h.

693 ³Descrição baseada na carta de cores de Saccardo (1894) e observada nas quatro repetições aos seis dias após a repicagem. Os isolados foram cultivados em meio BDA, a $25 \pm$
694 1 °C e fotoperíodo de 12 h.

695 ⁴Quantidade total de setores presentes nas quatro repetições.

696 ⁵A = Ausente; P = Presente.

697 *Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P = 0,05$).

698

699

700

701

702

703

704

705

706

707

708

709

710

711 **TABELA 2** – Características morfológicas (comprimento, largura e relação comprimento/largura) de isolados de *Colletotrichum musae* obtidos
 712 de banana com sintomas de antracnose, área abaixo da curva do progresso de doença (AACPD) em frutas cv. Pacovan inoculadas com e sem
 713 ferimentos e teste bioquímico de utilização de fontes de carbono.
 714

Isolado	Comprimento (μm) ^{1*}	Largura (μm) ^{1*}	Relação C/L ^{2*}	AACPD*		Teste bioquímico ³	
				Com Ferimento	Sem Ferimento	Tartarato de amônio	Ácido cítrico
CMM 3120	15,26 d	3,78 n	4,07 c	2,97 b	0	+	–
CMM 3122	16,05 c	5,21 e	3,11 h	3,25 b	0	+	–
CMM 3125	13,75 g	4,77 h	2,91 i	4,28 a	3,10 a	+	–
CMM 3126	12,89 h	4,55 j	2,86 i	2,71 b	0	+	–
CMM 3127	16,18 c	5,12 f	3,20 g	4,02 a	1,27 b	+	–
CMM 3129	16,35 b	5,84 b	2,85 i	2,87 b	0,44 b	+	–
CMM 3132	15,24 d	5,36 e	2,86 i	4,03 a	0	v	–
CMM 3133	13,98 f	5,70 c	2,49 d	4,32 a	0,67 b	+	–
CMM 3135	14,88 e	5,78 b	2,59 l	3,14 b	0	+	–
CMM 3136	13,60 g	4,77 h	2,87 i	4,36 a	2,08 a	+	–
CMM 3140	16,59 b	5,73 c	2,95 i	3,60 b	0,73 b	+	–
CMM 3142	16,97 b	6,03 a	2,85 i	2,11 b	1,61 a	+	–
CMM 3144	15,05 d	5,38 e	2,82 i	3,16 b	0	+	–
CMM 3146	14,21 f	5,31 e	2,69 j	3,03 b	0,85 b	+	–

CMM 3148	12,37 i	4,42 j	2,82 i	3,54 b	1,20 b	+	-
CMM 3152	16,38 b	5,27 e	3,16 g	3,06 b	0	+	-
CMM 3153	17,64 a	3,95 m	4,51 a	3,28 b	0	+	-
CMM 3155	13,96 f	4,64 i	3,02 h	3,56 b	0	+	-
CMM 3156	14,74 e	4,98 f	2,99 h	4,16 a	2,51 a	+	-
CMM 3157	15,72 c	5,85 b	2,72 j	4,72 a	2,01 a	+	-
CMM 3158	16,02 c	5,49 d	2,95 i	3,65 b	0,62 b	+	-
CMM 3161	15,43 d	4,14 l	3,78 d	3,42 b	1,74 a	+	-
CMM 3162	16,64 b	4,68 i	3,59 e	3,11 b	0,80 b	+	-
CMM 3163	13,13 g	4,80 h	2,75 j	3,54 b	0	v	-
CMM 3165	13,22 c	4,65 i	2,86 i	3,54 b	0,77 b	+	-
CMM 3168	17,80 a	5,52 d	3,25 g	4,02 a	0,78 b	+	-
CMM 3175	13,49 g	4,73 h	2,88 i	4,66 a	1,23 b	+	-
CMM 3177	13,98 f	4,99 f	2,82 i	3,94 a	1,24 b	+	-
CMM 3179	15,66 c	4,96 f	3,20 g	4,24 a	2,31 a	+	-
CMM 3180	16,14 c	4,67 i	3,50 e	3,29 b	0,88 b	+	-
CMM 3183	17,52 b	4,63 i	3,83 d	2,51 b	0	-	-
CMM 3187	16,20 c	4,69 i	3,49 e	3,30 b	1,98 a	-	-
CMM 3188	14,48 e	4,63 i	3,20 g	3,44 b	2,49 a	+	-
CMM 3189	13,98 f	4,16 l	3,40 f	2,81 b	0	+	-
CMM 3191	12,16 i	5,16 f	2,37 m	2,99 b	0	+	-

CMM 3194	16,81 b	4,30 l	3,96 c	3,09 b	0	–	–
CMM 3196	13,57 g	5,06 f	2,69 j	3,77 b	1,25 b	+	–
CMM 3197	13,70 g	5,14 f	2,69 j	5,12 a	1,21 b	+	–
CMM 3199	15,13 d	4,69 i	3,24 g	3,43 b	0	+	–
CMM 3200	15,27 d	4,56 j	3,36 f	4,14 a	2,97 a	+	–
CMM 3202	14,68 e	4,04 m	3,70 d	3,32 b	1,03 b	+	–
CMM 3204	15,13 d	4,79 h	3,23 g	3,96 a	1,37 b	+	–
CMM 3208	14,81 e	4,87 g	3,07 h	4,36 a	1,03 b	+	–
CMM 3209	14,34 f	5,04 f	2,88 i	4,14 a	2,06 a	+	–
CMM 3211	14,79 e	4,55 j	3,31 g	3,03 b	0	+	–
CMM 3213	14,69 e	5,03 f	2,95 i	4,87 a	0,83 b	+	–
CMM 3215	17,55 a	4,14 l	4,27 b	2,81 b	0,79 b	+	–
CMM 3218	14,82 e	5,22 e	2,86 i	3,97 a	1,93 a	–	–
CMM 3219	16,12 c	4,92 g	3,31 g	3,27 b	1,04 b	+	v
CMM 3220	13,40 g	5,00 f	2,71 j	4,46 a	1,89 a	+	–
CMM 3223	16,67 b	5,06 f	3,35 f	3,46 b	0,66 b	+	–
CMM 3224	16,76 b	4,27 l	3,97 c	3,58 b	1,00 b	+	–
CMM 3225	16,15 c	5,38 e	3,08 h	5,06 a	2,30 a	+	–
CMM 3226	15,15 d	5,24 e	2,95 i	4,20 a	1,77 a	v	–
CMM 3228	15,72 c	4,93 g	3,24 g	2,69 b	0	+	–
CMM 3231	15,90 c	4,66 i	3,44 f	4,22 a	0	+	–

CMM 3232	13,56 g	4,69 i	2,91 i	3,70 b	0	+	-
CMM 3234	14,21 f	6,05 a	2,39 m	3,13 b	0,78 b	+	-
CMM 3235	13,15 g	4,56 j	2,91 i	3,58 b	0	+	-
CMM 3238	12,93 h	4,68 i	2,78 j	4,65 a	1,74 a	+	-

715 ¹Média de 100 conídios produzidos em meio BDA, aos sete dias de cultivo a 25 ± 1 °C e 12 h de fotoperíodo.

716 ²Média de 100 valores de relação C/L, calculada pela divisão do comprimento pela largura de cada isolado.

717 ³Experimento observado aos sete dias. + = capaz de crescer suficientemente no meio mudando a coloração de púrpura para amarelo (alteração do pH); - = incapaz de crescer
718 suficientemente no meio (crescimento fraco) e não promove qualquer mudança de cor; v = resultado variável.

719 *Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P = 0,05$).

720

721

722 **TABELA 3** – Matriz de correlação entre comprimento, largura e relação C/L dos conídios, taxa de crescimento micelial diária (TCMD), área
723 abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de frutas inoculadas com e sem fermento, respectivamente, analisadas para os 60 isolados de
724 *Colletotrichum musae* obtidos de banana com sintomas de antracnose e provenientes de três municípios do Estado de Pernambuco, Brasil.

725

Variável	Comprimento	Largura	Relação C/L	TCMD	AACPD CF
Largura	0,09 ^{ns}				
Relação C/L	0,63**	-0,69**			
TCMD	-0,03 ^{ns}	0,19**	-0,17**		
AACPD CF	-0,20**	0,11*	-0,24**	0,14*	
AACPD SF	ns	ns	ns	ns	0,37*

726 *Significativo ao nível de 5% de probabilidade ($P = 0,05$). **Significativo ao nível de 1% de probabilidade ($P = 0,01$). ^{ns}Não significativo.

727

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- 1 – O agente causal da antracnose da banana, *Colletotrichum musae*, está presente nos campos de produção dos três municípios pesquisados do Estado de Pernambuco;
- 2 – Existe variabilidade entre os isolados de *C. musae* no que diz respeito às características fisiológicas, culturais, morfológicas, bioquímicas, patogênicas e genótípicas;
- 3 – Isolados de *C. musae* provenientes de uma mesma área de produção tendem a ser mais próximos geneticamente;
- 4 – Constatou-se baixo fluxo gênico entre os isolados das diferentes áreas amostradas (o isolamento geográfico levou a formação de subpopulações com baixo fluxo gênico);
- 5 – Este é o primeiro estudo envolvendo testes bioquímicos (tartarato de amônio e ácido cítrico) com o agente causal da antracnose da banana;
- 6 – As variáveis coloração da colônia, morfologia de conídios e patogenicidade são ferramentas vantajosas na identificação da variabilidade entre os isolados de *C. musae*.