



ENAYRA SILVA SOUSA

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum*
spp. DE LEGUMINOSAS CULTIVADAS E PLANTAS
ESPONTÂNEAS**

**TERESINA – PI
2021**

ENAYRA SILVA SOUSA

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. DE LEGUMINOSAS
CULTIVADAS E PLANTAS ESPONTÂNEAS**

Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical para a obtenção do título de Doutora em Agronomia.

Orientador
Prof. Dr. José Evando Aguiar Beserra Júnior
Coorientadora
Prof^a Dr^a. Beatriz Meireles Barguil

**TERESINA – PI
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial CCA
Serviço de Representação da Informação

S725i Sousa, Enayra Silva.
Identificação e caracterização de *Colletotrichum spp.* de leguminosas cultivadas e plantas espontâneas. / Enayra Silva Sousa. - 2021.
142 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2024.

“Orientador: Prof. Dr. José Evando Beserra Júnior.”

1. Antracnose. 2. Filogenia multilocus. 3. Plantas espontâneas. 4. *Vigna unguiculata*. I. Beserra Júnior, José Evando. II. Título.

CDD 632.4

Bibliotecário: Rafael Gomes de Sousa - CRB3/1163


ENAYRA SILVA SOUSA

“IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum spp.* DE LEGUMINOSAS CULTIVADAS E PLANTAS ESPONTÂNEAS.”


Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Agricultura Tropical, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

APROVADA em 30 de julho de 2021.


Comissão Julgadora:

Documento assinado digitalmente
 **KEDMA DA SILVA MATOS**
Data: 30/04/2024 14:46:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Kedma da Silva Matos - UFRR

Documento assinado digitalmente
 **EDUARDO SEITI GOMIDE MIZUBUTI**
Data: 03/05/2024 14:27:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Eduardo Seiti Gomide Mizubuti - UFV

Documento assinado digitalmente
 **KAMILA CAMARA CORREIA**
Data: 03/05/2024 11:29:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Kamila Câmara Correia – UFCA

Gerusa Rodrigues dos S. Cavalcante

Profa. Dra. Gerusa Rodrigues dos Santos Cavalcante– UFPI

Documento assinado digitalmente
 **JOSE EVANDO AGUIAR BESERRA JUNIOR**
Data: 26/04/2024 13:27:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Evando Aguiar Beserra Júnior – CCA/UFPI
(Orientador)

TERESINA-PI

2021

DEDICATÓRIA

A meu filho David, meu sol, que com sua luz e inocência me ensina a ser uma pessoa melhor. À minha mãe Conceição, meu exemplo na vida.

Ao amigo José Monteiro (*in memoriam*), meu irmão de outra mãe.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos;

Aos meus orientadores, professor Dr. José Evando Aguiar Beserra Júnior e professora Dr^a Beatriz Meireles Barguil, por toda paciência, dedicação e disponibilidade na construção deste trabalho, pelos ensinamentos, apoio e exemplo;

Ao Professor Dr. Maruzanete Pereira de Melo, pelas contribuições essenciais, apoio e aconselhamento;

Aos meus familiares Sebastião Pereira, Daniel Ribeiro e Aluisio Sousa, pelo amor, apoio e suporte;

Às professoras Dr^{as} Gerusa Cavalcante e Ananda Beserra Santos, pelas valiosas contribuições no exame de qualificação e por compartilhar suas experiências na realização de experimentos;

Aos prezados Prof^{as}. Dra. Kamila Câmara Correia, Kedma da Silva Matos, Gerusa Rodrigues e Eduardo Gomide Mizubuti pelas excelentes contribuições na banca de defesa de tese;

Aos professores que integram o Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Agricultura Tropical (PPGA/AT) da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

Aos servidores técnicos que integram o PPGA/AT e o Centro de Ciências Agrárias (CCA-UFPI), em especial a servidora Antonia da Cruz Farias, a querida dona Toinha, por todo apoio ao longo desses anos, como também, aos servidores Silas Tavares, Leudimar Pereira e Cibele Farias, além de todos os outros pelo zelo com que nos receberam;

À Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA), na pessoa do professor Dr. Francisco de Alcântara Neto, pela disponibilização de espaço e equipamentos e a todos os servidores que a integram;

Ao professor Dr. Glauter Lima Oliveira (*in memoriam*) pela disponibilização de sementes;

Aos mestrandos e doutorandos Lorena Pires, Bruno Arcanjo, Vicente Neto, Emanuela Maria, Juliana Silva, Kássio Felipe, Kelvim Rocha, Kelvin Teixeira, Samara Raquel, João Pedro, entre outros, pelos bons momentos compartilhados;

Aos estagiários Gabriela Carvalho, Vinicius Brito, Alan Izaias e Elys Rejanne, pelo aprendizado e auxílios nos experimentos;

À todos que contibuiram direta ou indiretamente ao desenvolvimento deste trabalho.

EPIGRAFE

Aprenda, homem no asilo!
Aprenda, homem na prisão!
Aprenda, mulher na cozinha!
Aprenda, ancião!
Você tem que assumir o
comando!
Frequente a escola, você que
não tem casa!
Adquira conhecimento, você
que sente frio!
Você que tem fome, agarre o
livro: é uma arma.
Você tem que assumir o
comando (...).

Bertolt Brecht

RESUMO GERAL

Fungos do gênero *Colletotrichum* são patógenos agressivos para muitas famílias de plantas cultivadas. As espécies são hemibiotrófica e causam doenças que reduzem a produtividade e a qualidade de frutas, cereais e legumes. No Brasil, leguminosas de alto valor comercial e social como a soja e o feijão-caupi são afetadas por *Colletotrichum* spp. Além de plantas cultivadas, *Colletotrichum* spp. infectam plantas espontâneas, o que pode representar uma estratégia de sobrevivência para patógenos deste gênero. Diante da escassez de informações sobre as espécies de *Colletotrichum* capazes de causar doença em leguminosas cultivadas e plantas espontâneas, os objetivos deste trabalho foram: 1. Identificar espécies de *Colletotrichum* causadoras de doenças em leguminosas cultivadas e plantas espontâneas nos Estados do Piauí, Maranhão e Ceará, 2. Avaliar a patogenicidade dos isolados obtidos, 3. Avaliar a gama de hospedeiros. Vinte e três isolados foram identificados utilizando o conceito de espécie morfológica e filogenética multilocus. Testes de patogenicidade nas hospedeiras de origem foram realizados com 13 isolados. Além disso, foi avaliada a gama de hospedeiras dos isolados em plantas de *Crotalaria breviflora*, *Crotalaria ochroleuca*, feijão-caupi, feijão-comum, feijão-deporco e soja. Seis espécies de *Colletotrichum*, além de uma nova espécie do complexo *acutatum* foram identificadas. Os isolados de *Colletotrichum* spp. foram organizados em seis complexos: *acutatum*, *boninense*, *gloeosporioides*, *orchidearum*, *magnum* e *truncatum*. *Colletotrichum piauiense* sp. nov., do complexo *acutatum* obtida de plantas de *Crotalaria spectabilis* e *Spigelia anthelmia* é descrita neste estudo. Isolados de *C. siamense* e *C. karstii* foram identificados pela primeira vez a partir de *S. anthelmia*. As espécies *C. plurivorum* e *C. musicola* são relatadas pela primeira vez em feijão-caupi no país. Outros patossistemas são descritos pela primeira vez em anil roxo, feijão-deporco, mucuna, entre outros. Os postulados de Koch foram completados e a inespecificidade dos isolados entre plantas cultivadas e plantas espontâneas foi confirmada. Estes resultados contribuem para o conhecimento da diversidade de *Colletotrichum* spp. que ocorre em leguminosas e plantas espontâneas associadas em estados do Nordeste e abrem caminhos para estudos de distribuição geográfica, epidemiologia e estabelecimento de medidas de manejo.

Palavras-chave: antracnose, filogenia multilocus, plantas espontâneas, *Vigna unguiculata*

GENERAL ABSTRACT

Fungi of the *Colletotrichum* genus are aggressive pathogens for many families of cultivated plants. Most species are hemibiotrophic and cause diseases that reduce the productivity and quality of fruits, cereals and vegetables. In Brazil, legumes of high commercial and social value such as soybeans and cowpea are affected by *Colletotrichum* spp. In addition to cultivated plants, *Colletotrichum* spp. infect wild plants, and this characteristic may represent a survival strategy for pathogens of this genus. Given the scarcity of information about *Colletotrichum* species capable of causing disease in cultivated legumes and weeds, the objectives of this work were: 1. To identify *Colletotrichum* species causing diseases in cultivated legumes and weeds in the States of Piauí, Maranhão and Ceará, 2. Evaluate the pathogenicity of the obtained isolates, 3. Evaluate the host range. Twenty-three isolates were identified using the concept of morphological and phylogenetic multilocus species. Pathogenicity tests on the original hosts were performed with 13 isolates. In addition, the host range of the isolates in *Crotalaria breviflora*, *Crotalaria ochroleuca*, cowpea, common bean, jack bean and soybean plants were evaluated. Six species of *Colletotrichum*, in addition to a new species from the acutatum complex were identified. Isolates of *Colletotrichum* spp. were organized into six complexes: acutatum, boninense, gloeosporioides, orchidearum, magnum and truncatum. *Colletotrichum piauiense* sp. nov., of the acutatum complex obtained from *Crotalaria spectabilis* and *Spigelia antheimia* plants is described in this study. Isolates of *C. siamense* and *C. karstii* were identified for the first time from *S. antheimia*. The species *C. plurivorum* and *C. musicola* are reported for the first time in cowpea in the country. Other pathosystems are described for the first time in hairy indigo, jack beans, mucuna, among others. Koch's postulates were completed and the nonspecificity of the isolates between cultivated plants and wild plants was confirmed. These results contribute to the knowledge of the diversity of *Colletotrichum* spp. that occurs in legumes and wild plants in Northeastern states and open paths for studies of geographic distribution, epidemiology and establishment of management measures.

Keywords: anthracnose, multilocus phylogeny, weeds, *Vigna unguiculata*

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	ix
GENERAL ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Gênero <i>Colletotrichum</i> : aspectos gerais e estilos de vida	16
2.2 <i>Colletotrichum</i> em leguminosas no Brasil.....	24
2.3 Plantas espontâneas como hospedeiras de <i>Colletotrichum</i> spp.	29
3 REFERÊNCIAS	32
4. CAPÍTULO I First report of anthracnose on <i>Spigelia anthermia</i> caused by <i>Colletotrichum karstii</i> and <i>Colletotrichum siamense</i> in Brazil. Journal of Plant Diseases and Protection, v. 128, n. 3, p. 875-880, 1 2021.....	42
4.1. Abstract	42
4.2. References	49
5. CAPÍTULO II Diversidade de <i>Colletotrichum</i> spp em leguminosas e plantas espontâneas no Nordeste do Brasil e caracterização de uma nova espécie do complexo acutatum.	57
5.1. RESUMO	57
5.2. ABSTRACT	58
5.3. INTRODUÇÃO	58
5.4 MATERIAL E MÉTODOS	61
5.4.1 Obtenção dos isolados.....	61
5.4.2 Análise morfológica	63
5.4.3 Análise filogenética.....	64
5.4.4 Testes de patogenicidade	79
5.4.5. Determinação da gama de hospedeiros.....	80
5.5 RESULTADOS	82
5.5.1 Isolados obtidos	82
5.5.2 Análise filogenética multilocus	82
5.5.3 Taxonomia	90
5.5.4 Caracterização dos marcadores morfológicos	92
5.5.5 Teste de patogenicidade	106
5.5.6 Gama de hospedeiros.....	110
5.6. DISCUSSÃO	115
5.6.1 Complexo acutatum	115
5.6.2 Complexo boninense	118
5.6.3 Complexo gloeosporioides	120

5.6.4 Complexo orchidearum	122
5.6.5 Complexo magnum	127
5.6.6 Complexo truncatum	128
5.7. CONCLUSÕES	132
5.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	133

1. INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Colletotrichum* engloba fungos fitopatogênicos de importância elevada no mundo. Possui espécies endofíticas e saprófitas, mas se destaca pela diversidade de patógenos causadores de doenças em plantas. A antracnose, principal doença causada por *Colletotrichum* spp., possui distribuição mundial e afeta plantas cultivadas e não cultivadas. Algumas espécies do gênero apresentam especificidade de hospedeiros, mas em geral, as espécies são polífagas (CANNON *et al.*, 2012). Fungos desse gênero provocam danos em culturas importantes como mamão, manga, goiaba, pimentas e maçã (PHOULIVONG *et al.*, 2010; PHOULIVONG *et al.*, 2012), citrus (GUARNACCIA *et al.*, 2017), plantas ornamentais (GUARNACCIA *et al.*, 2021) e leguminosas de alto valor comercial nos países tropicais, como feijão-comum e soja (SHARMA *et al.*, 2008; ROGÉRIO *et al.*, 2016).

No Brasil, *Colletotrichum* spp. têm ampla distribuição geográfica e atingem as principais culturas agrícolas. Em leguminosas, destacam-se as antracnoses ocasionadas por *Colletotrichum truncatum* na soja (ROGERIO *et al.*, 2016), no feijão-caupi (SPONHOLZ *et al.*, 2006) e no feijão-fava (CAVALCANTE *et al.*, 2019). Além da mancha-café em sementes de feijão-caupi (SPONHOLZ *et al.*, 2006), a antracnose e a sarna do feijão-comum são causadas por *Colletotrichum lindemuthianum* (RAVA, 1994; PEREIRA, 2019). Adicionalmente, outras espécies de *Colletotrichum* vêm sendo associadas a estas doenças (SOUSA *et al.*, 2017; CAVALCANTE *et al.*, 2019; PEREIRA, 2019).

O avanço na metodologia de identificação tem permitido o aumento de notificações de ocorrência de *Colletotrichum* spp. em plantas cultivadas e a discriminação de plantas espontâneas como hospedeiras alternativas ou reservatórios de fungos fitopatogênicos. Estudos têm comprovado que *Colletotrichum* spp. colonizam e/ou sobrevivem em plantas espontâneas mono e eudicotiledôneas (FRARE *et al.*, 2016; HIRAYAMA *et al.*, 2018; TIKAMI, 2020).

Em muitas plantas a infecção pode ser assintomática, dificultando a identificação e caracterização do patógeno. No Brasil, principalmente na região Nordeste, estudos sobre a etiologia e ocorrência de *Colletotrichum* spp. em plantas espontâneas ainda são escassos. Embora os estudos de identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* tenham aumentado nos últimos anos, ainda há muito que se esclarecer sobre a ocorrência de espécies de *Colletotrichum*

1 associadas a antracnoses em leguminosas cultivadas e plantas espontâneas no país,
2 incluindo o Nordeste onde os estudos são escassos.

3 *Colletotrichum* representa um gênero de fungos bem adaptados aos ambientes
4 onde estão inseridos. Esse sucesso adaptativo é claramente demonstrado por sua
5 distribuição geográfica abrangente, pela ampla gama de hospedeiras e pelos
6 diferentes estilos de vida encontrados em campo. O relacionamento da associação
7 microrganismo-hospedeiro pode variar entre endofítico, latente ou hemibiotrófico, a
8 depender da espécie fúngica, e de fatores do hospedeiro e do ambiente (SILVA *et al.*,
9 2017; SILVA *et al.*, 2020).

10 Patógenos deste gênero possuem estratégias de disseminação e infecção bem
11 desenvolvidas, com eficientes processos de colonização dos tecidos do hospedeiro.
12 Compreender os fatores envolvidos no ciclo da doença é de importância fundamental
13 para a correta adoção das estratégias de manejo; a necessidade de estudos que
14 analisem epidemiologia, adaptabilidade e a capacidade competitiva das espécies
15 cresce conforme novas espécies e patossistemas são descritos.

16 A investigação de espécies vegetais que possam ser fontes de inóculo para a
17 cultura principal é importante no estabelecimento de estratégias de manejo dos
18 patógenos em campo.

19 Considerando a diversidade potencial de espécies de *Colletotrichum* que
20 ocorrem em plantas cultivadas e não cultivadas no país, a carência de informações a
21 respeito das espécies patogênicas em leguminosas cultivadas ou não, este estudo
22 teve como objetivos: 1. Identificar e caracterizar *Colletotrichum* spp. associados a
23 antracnose em plantas cultivadas da família Fabaceae e plantas espontâneas dos
24 estados do Piauí, Maranhão e Ceará. 2. Avaliar a patogenicidade dos isolados obtidos.
25 3. Avaliar a gama de hospedeiras das espécies encontradas.

26
27
28
29
30
31
32
33
34

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Colletotrichum*: aspectos gerais e estilos de vida

Classificados no Filo Ascomycota, Classe Sordariomycetes, Família Glomerellaceae, o gênero *Colletotrichum* é considerado um dos mais abrangentes e importantes para a agricultura mundial. Espécies do gênero são relatadas causando perdas em plantas de diversas famílias botânicas, além de serem patógenos eminentes em pós-colheita por desenvolverem infecções quiescentes de difícil monitoramento em frutos nos estágios iniciais (PHOULIVONG *et al.*, 2010; CANNON *et al.*, 2012; DEAN *et al.*, 2012; MARIN-FELIX *et al.*, 2017).

O gênero *Colletotrichum* engloba patógenos que se desenvolvem principalmente em climas tropicais e subtropicais, amplamente associados a plantas lenhosas e herbáceas, afetam frutos de alto valor comercial, cereais e legumes (CANNON *et al.*, 2012). Embora sejam majoritariamente fitopatógenos, há relatos de associação de fungos deste gênero com patologias humanas (POTE *et al.*, 2017; HUNG *et al.*, 2020), e como entomopatógenos (MASCARIN *et al.*, 2016), entre outras associações pontuais.

Epidemias de *Colletotrichum* podem representar grandes prejuízos a agricultura local e para a economia dos países exportadores de alimentos, uma vez que esses patógenos causam redução de produção e da qualidade comercial de alimentos diversos. Exemplos de surtos epidêmicos são encontrados na literatura científica. Em Algarve, região sul de Portugal, até 100% dos olivais foram afetados pela doença em 2006 (CACCIOLA *et al.*, 2012); enquanto a *coffee berry disease* (CBD) tem provocado perdas de produção significativas na cultura do café na Etiópia (GIDDISA, 2016). As epidemias podem afetar plantas de elevado valor comercial e alimentício, impactando no acesso de famílias a alimentação de qualidade e reduzindo os lucros dos produtores. Além disso, a elevada incidência/severidade das antracoses na pré- e pós-colheita pode aumentar a utilização de fungicidas de forma indiscriminada, reduzindo a qualidade do alimento produzido, além de aumentar os riscos à saúde humana e desequilíbrio ambiental (SOUZA *et al.*, 2020).

Fungos desse gênero são identificados morfológicamente pela presença de hifas hialinas e apocíticas; os conídios são lisos, asseptados e hialinos, podem ser cilíndricos, clavados, fusiformes, elipsoidais ou ovóides, retos ou curvos (SUTTON, 1980; MARIN-FELIX *et al.*, 2017). Observa-se presença de setas férteis em algumas