



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CECA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

TIAGO SILVA LIMA

IDENTIFICAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADAS À ANTRACNOSE
EM HELICÔNIAS E AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS

RIO LARGO – AL
2023

TIAGO SILVA LIMA

**IDENTIFICAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADAS À ANTRACNOSE
EM HELICÔNIAS E AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Proteção de Plantas PPGPP como parte das
exigências para a obtenção do título de Doutor da
Universidade Federal de Alagoas UFAL/CECA.

Orientadora: Profa. Dra. Iraildes Pereira Assunção
Coorientadora: Profa. Dra. Jaqueline Figueredo de O. Costa

**RIO LARGO – AL
2023**

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas

Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias

Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

L732i Lima, Tiago Silva.

Identificação de *Colletotrichum* spp. associadas à antracnose em helicônias e avaliação da sensibilidade a fungicidas. / Tiago Silva Lima. – 2023.

98f.: il.

Orientadora: Iraíldes Pereira Assunção.

Coorientador(a): Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa.

Tese (Doutorado em Proteção de plantas) – Programa de Pós -Graduação em Proteção de plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2023.

Inclui bibliografia

1. Controle químico. 2. Filogenia Multi-locus. 3. Heliconiaceae.
I. Título.

CDU: 632.95

Folha de Aprovação

TIAGO SILVA LIMA

IDENTIFICAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM HELICÔNIAS E AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS

Tese submetida ao corpo docente do Programa de
Pós-Graduação em Proteção de Plantas da
Universidade Federal de Alagoas e **Aprovada** em
24 de Fevereiro de 2023.

Profa. Dra. Iraildes Pereira Assunção (CECA/UFAL)
Orientadora



Documento assinado digitalmente

JAQUELINE FIGUEREDO DE OLIVEIRA COS*

Data: 15/05/2023 11:26:22-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa (CECA/UFAL)
Coorientadora e Presidente Titular

Banca examinadora:



Documento assinado digitalmente

SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA

Data: 15/05/2023 16:49:18-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva (CECA/UFAL) (Membro Titular)



Documento assinado digitalmente

MARIA DE FATIMA SILVA MUNIZ

Data: 15/05/2023 12:44:46-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Maria de Fátima Silva Muniz (CECA/UFAL) (Membro Titular)



Documento assinado digitalmente

JULIANA PAIVA CARNAUBA

Data: 16/05/2023 07:56:29-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Juliana Paiva Carnaúba (IFAL) (Membro Titular)

AGRADECIMENTOS

A minha família sempre presente pela educação, exemplo, confiança e amor. Em especial à minha Mãe Cláudia Araújo pela guerreira que é, por todo amor, dedicação e por meio a tantas dificuldades sempre me proporcionar o melhor. A minha Noiva Ariele Matutino pelo amor, companheirismo e incentivo, tornando meus dias melhores e a minha vida mais completa. Ao meu irmão Matheus Lima (*in memoriam*) por todas as lembranças e momentos vividos, você faz muita falta. A minha Sobrinha Clara Cristal pelo carinho, amor, felicidade e ternura.

A minha orientadora Prof^a Dra Iraíldes Pereira Assunção pelo apoio, orientação, paciência e compreensão.

A minha coorientadora Prof^a Dra Jaqueline Figueredo pelo apoio, acolhimento, orientação, compreensão, paciência, e por realmente ser uma professora, nos ensinando, motivando, sendo exemplo com seu profissionalismo, maturidade, além de vivenciar e nos dar forças e incentivo para superar as adversidades desnecessárias que a vida acadêmica infelizmente ainda nos impõe.

A banca examinadora por todos os ajustes, correções e ajuda.

A minha amiga Taciana pela grande ajuda em todo Doutorado, apoio, amizade, compreensão, paciência e superação perante as dificuldades que tivemos que passar, sou grato por tudo.

As minhas amigas, Cecília Hernandez, Maria Jussara, Jaqueline Laurentino, Thaynnara Lira, Kemelly Athla e meus amigos Eduardo, Joais e Wallisson, pela grande ajuda nos experimentos, compreensão, amizade e alegrias.

Aos meus amigos José Carlos, José Lucas e Aléx Bêu pela amizade, companheirismo, momentos e alegrias.

Aos meus colegas da Clínica Fitossanitária e do Laboratório de Fitopatologia.

A Prof^a Dra Edna Peixoto pelas oportunidades, acolhimento, ternura e ensinamentos.

Aos Profs. Drs. Marcelo Cruz, Fátima Muniz, Sarah Cavalcanti e Gildemberg pelos valiosos ensinamentos e apoio para realização deste trabalho;

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas.

Aos colegas e funcionários pelo apoio e incentivo.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

A todos que de alguma forma colaboraram para realização desse trabalho.

“O pensamento é a força criadora”.
(Racionais Mc's)

RESUMO

As doenças de plantas configuram um importante entrave enfrentado por produtores de helicônias, causando perdas significativas na produção. A antracnose, por exemplo, é uma doença causada por fungos do gênero *Colletotrichum*, responsável por provocar prejuízos em função do difícil controle, pois os sintomas deixam as hastes florais impróprias para a comercialização. O gênero *Colletotrichum*, considerado como importante patógeno de plantas, possui ampla diversidade de espécies, sendo responsáveis por causar uma variedade de doenças em diversas culturas econômicas, dificultando a eficiência no controle desta doença. O conhecimento de quais espécies de *Colletotrichum* estão ocorrendo em Helicônias e o efeito dos diferentes fungicidas sobre elas é importante para o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficientes. Contudo, estudos de identificação deste gênero em Helicônias ainda são escassos. O objetivo deste trabalho foi identificar *Colletotrichum* spp. associadas à plantas da família Heliconiaceae mediante o emprego de ferramentas moleculares e características morfoculturais, bem como avaliar o efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial dos patógenos. Isolados fúngicos foram obtidos de plantas de Helicônias com sintomas de antracnose nos estados de Alagoas, Ceará e Pernambuco. Estes isolados foram caracterizados através de análise filogenética multi-locus e caracteres morfoculturais das espécies. Foram obtidos 32 isolados exibindo sintomas típicos de antracnose. Foi realizado o teste de patogenicidade, a análise multi-locus e estudos referentes às características morfológicas e culturais das distintas espécies de *Colletotrichum* identificadas. No teste de patogenicidade, folhas destacadas e brácteas com ferimento, inoculadas com *Colletotrichum* spp. apresentaram manchas necróticas a partir de 24 horas após a retirada de câmara úmida, 72 horas após inoculação. Em relação à análise multi-locus das sequências dos genes *GAPDH*, *CAL*, *TUB2* e região ITS foi realizada com 8 isolados de *Colletotrichum*. Os isolados foram agrupados nos complexos *C. boninense*, *C. gloeosporioides*, *C. magnum* e *C. gigasporum*. Este é o primeiro relato das espécies *C. alienum*, *C. brevisporum*, *C. gigasporum*, *C. karstii*, *C. theobromicola* e *C. tropicale* no gênero *Heliconia*. Testes *in vitro* com os fungicidas Score e Amistar Top foram realizados para avaliar a inibição do crescimento micelial pelo método de incorporação de fungicidas ao meio de cultura BDA. Foram avaliadas as 6 *Colletotrichum* spp. identificadas por meio da análise filogenética multi-locus e caracteres morfoculturais no gênero *Heliconia*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 6x2x5 (6 espécies de *Colletotrichum* x 2 fungicidas x 5 concentrações). As concentrações utilizadas foram: 100, 500, 1000, 5000 e 10000 mg L⁻¹. Para cada tratamento foram empregadas 5 repetições. As testemunhas consistiram da inoculação de discos miceliais diretamente no meio BDA sem a adição de fungicidas. Todas as concentrações testadas dos fungicidas reduziram o crescimento micelial e a taxa de crescimento das 6 espécies distintas de *Colletotrichum*. Os fungicidas Score e Amistar Top foram capazes de controlar *in vitro* as espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em *Heliconia* spp. Todas as espécies de *Colletotrichum* foram sensíveis aos ingredientes ativos, obtendo os maiores valores de sensibilidade na concentração de 10000 mgL⁻¹ dos fungicidas avaliados.

Palavras-chave: Controle químico, Filogenia Multi-locus, Heliconiaceae

ABSTRACT

Plant diseases are an important obstacle faced by heliconia producers, causing significant losses in production. Anthracnose, for example, is a disease caused by fungi of the genus *Colletotrichum*, responsible for causing damage due to the difficult control, since the symptoms leave the flower stems unfit for commercialization. The genus *Colletotrichum*, considered an important plant pathogen, has a wide diversity of species, being responsible for causing a variety of diseases in different economic cultures, making it difficult to control this disease. Knowing which *Colletotrichum* species are occurring in Heliconias and the effect of different fungicides on them is important for the development of more efficient control strategies. However, identification studies of this genus in Heliconias are still scarce. The objective of this work was to identify *Colletotrichum* spp. associated with plants of the Heliconiaceae family through the use of molecular tools and morphocultural characteristics, as well as to evaluate the effect of fungicides on the mycelial growth of pathogens. Fungal isolates were obtained from Heliconia plants with symptoms of anthracnose in the states of Alagoas, Ceará and Pernambuco. These isolates were characterized through multi-locus phylogenetic analysis and mold-cultural traits of the species. 32 isolates were obtained showing typical symptoms of anthracnose. The pathogenicity test, the multi-locus analysis and studies related to the morphological and cultural characteristics of the different species of *Colletotrichum* identified were carried out. In the pathogenicity test, detached leaves and injured bracts, inoculated with *Colletotrichum* spp. showed necrotic spots from 24 hours after removal from the humid chamber, 72 hours after inoculation. In relation to the multi-locus analysis of the sequences of the genes *GAPDH*, *CAL*, *TUB2* and ITS region, it was performed with 17 isolates of *Colletotrichum*. The isolates were grouped into *C. boninense*, *C. gloeosporioides*, *C. magnum* and *C. gigasporum* complexes. This is the first report of the species *C. alienum*, *C. brevisporum*, *C. gigasporum*, *C. karstii*, *C. theobromicola* and *C. tropicale* in the genus *Heliconia*. *In vitro* tests with Score and Amistar Top fungicides were carried out to evaluate the inhibition of mycelial growth by the method of incorporating fungicides into the PDA culture medium. The 6 *Colletotrichum* spp. identified through multi-locus phylogenetic analysis and mold-cultural characters in the genus *Heliconia*. The experimental design was completely randomized (DIC), in a 6x2x5 factorial scheme (6 species of *Colletotrichum* x 2 fungicides x 5 concentrations). The concentrations used were: 100, 500, 1000, 5000 and 10000 mg L⁻¹. For each treatment, 5 repetitions were used. The controls consisted of the inoculation of mycelial discs directly in the PDA medium without the addition of fungicides. All tested concentrations of fungicides reduced mycelial growth and the growth rate of the 6 distinct species of *Colletotrichum*. Score and Amistar Top fungicides were able to control *in vitro* the *Colletotrichum* species associated with anthracnose in *Heliconia* spp. All *Colletotrichum* species were sensitive to the active ingredients, obtaining the highest sensitivity values at the concentration of 10000 mgL⁻¹ of the evaluated fungicides.

Keywords: Chemical control, Multi-locus phylogeny, Heliconiaceae.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	(1) Lâmina de vidro estéril acondicionada em placa de Petri forrada com papel filtro estéril umedecido com ADE; (2) Mensurações de imagens dos conídios (A) e apressórios (B) obtidas através do software BELView (Versão 6.2.2.1).....	47
Figura 2	Sintomas do campo e teste de patogenicidade em folhas destacadas e brácteas dos isolados de <i>Colletotrichum</i> .	50-52
Figura 3	Árvore filogenética concatenada utilizando os genes <i>GAPDH</i> e <i>CAL</i> inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana para as espécies do complexo <i>Colletotrichum boninense</i> . Os valores da probabilidade posterior > 0,04 estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (CBS112999).....	53
Figura 4	Árvore filogenética concatenada utilizando o gene <i>GAPDH</i> e a região ITS inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana para as espécies do complexo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . Os valores da probabilidade posterior > 0,03 estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com <i>Colletotrichum boninense</i> (ICMP17904).....	54
Figura 5	Árvore filogenética concatenada utilizando os genes <i>GAPDH</i> e <i>TUB</i> e a região ITS, inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana para as espécies do complexo <i>Colletotrichum magnum</i> . Os valores da probabilidade posterior > 0,03 estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ICMP17821).....	55
Figura 6	Árvore filogenética concatenada utilizando os genes <i>GAPDH</i> e <i>CAL</i> inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana para as espécies do complexo <i>Colletotrichum gigasporum</i> . Os valores da probabilidade posterior > 0,05 estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (ICMP17821).....	56
Figura 7	Aspectos culturais e morfológicos de isolados de <i>Colletotrichum</i>	58-59

Figura 8	Porcentagem de inibição do fungicida Score e Amistar Top sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum</i> spp.....	82-83
Figura 9	Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de <i>Colletotrichum</i> spp. nas diferentes concentrações do fungicida Score e tratamentos de controle.....	86
Figura 10	Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de <i>Colletotrichum</i> spp. nas diferentes concentrações do fungicida Amistar Top e tratamentos de controle.....	87
Figura 11	Sensibilidade de <i>Colletotrichum</i> spp. nas diferentes concentrações do fungicida Score e tratamentos de controle em placas de Petri, lado esquerdo frente e lado direito verso.....	88-90
Figura 12	Sensibilidade de <i>Colletotrichum</i> spp. nas diferentes concentrações do fungicida Amistar Top e tratamentos de controle em placas de Petri, lado esquerdo frente e lado direito verso.....	91-93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Isolados de <i>Colletotrichum</i> obtidos de diferentes espécies e partes vegetais de helicônias e distintos locais de coleta.....	48
Tabela 2	Dados do teste de patogenicidade em folhas destacadas e brácteas dos isolados de <i>Colletotrichum</i>	50
Tabela 3	Dados morfológicos e culturais dos isolados de <i>Colletotrichum</i>	58
Tabela 4	Fungicidas utilizados nos testes do controle <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum</i> spp.....	81
Tabela 5	Determinação da melhor concentração inibitória efetiva dos fungicidas Score e Amistar Top no controle de <i>Colletotrichum</i> spp. e médias da inibição de crescimento micelial (% $\pm$ DP) nas distintas concentrações dos fungicidas e das testemunhas.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALHE= (AL) Alagoas-Maribondo+ (HE) Heliconia

HEV1AL1 = (HE) Heliconia + (V1) variedade 1 + (AL) Alagoas + N° Isolado

HEV2AL3 = (HE) Heliconia + (V2) variedade 2 + (AL) Alagoas + N° Isolado

HEPA-CE= (HE) Heliconia + (PA) Pacoti + (CE) Ceará

HEGU-CE= (HE) Heliconia + (GU) Guaramiranga + (CE) Ceará

HEIP-PE= (HE) Heliconia+ (IP) Ipojuca + (PE) Pernambuco

HEPA-PE= (HE) Heliconia+ (PA) Paulista + (PE) Pernambuco

PIC= Porcentagem de Inibição do Crescimento Micelial

IVCM= Índice de Velocidade do Crescimento Micelial

BDA= Batata-Dextrose-Ágar

BOD= *Biochemical Oxygen Demand*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. Geral.....	17
2.2. Objetivos específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1. A Cultura da Helicônia.....	18
3.2. Importância econômica das helicônias	20
3.3. Antracnose em Helicônia.....	21
3.4. Gênero <i>Colletotrichum</i>	22
3.5. Controle da Antracnose em Helicônias.....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
4. IDENTIFICAÇÃO DE <i>COLLETOTRICHUM</i> SPP. ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM HELICÔNIAS	40
4.1. INTRODUÇÃO.....	42
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	44
4.2.1. Obtenção dos isolados de <i>Colletotrichum</i>	44
4.2.2. Teste de patogenicidade	44
4.2.3 Caracterização molecular	45
4.2.4. Estudos morfo culturais das espécies de <i>Colletotrichum</i>	46
4.3. RESULTADOS	48
4.3.1. Obtenção dos isolados.....	48
4.3.2. Teste de Patogenicidade	49
4.3.3. Caracterização molecular dos isolados de <i>Colletotrichum</i>	52
4.3.4. Caracterização Morfo cultural.....	56
4.4. DISCUSSÃO.....	60
4.5. CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
5. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS DE <i>COLLETOTRICHUM</i> SPP. IDENTIFICADAS EM <i>HELICÔNIA</i> SPP.	76
5.1. INTRODUÇÃO.....	78
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	80
5.2.1. Obtenção dos isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.	80
5.2.2. Condução do experimento <i>In Vitro</i>	80

5.2.3. Avaliação do experimento <i>In Vitro</i>	81
5.2.4. Análise estatística.....	81
5.3. RESULTADOS	82
5.3.1. Porcentagem de inibição micelial	82
5.3.2. Determinação da melhor concentração inibitória efetiva dos fungicidas	84
5.3.3. Índice de velocidade do crescimento micelial.....	85
5.3.4. Sensibilidade de <i>Colletotrichum</i> spp. nas diferentes concentrações dos fungicidas	87
5.4. DISCUSSÃO	94
5.4. CONCLUSÕES	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

1. INTRODUÇÃO GERAL

As helicônias são plantas herbáceas, perenes com brácteas coloridas e brilhantes, possuem um único gênero *Heliconia*, incluído na família Heliconiaceae (KRESS, 1990; USDA, 2022). São empregadas como flores de corte e no paisagismo, e se adaptam perfeitamente ao uso em vasos ou compondo arranjos florais (PINHEIRO et al., 2012). As helicônias possuem ocorrência natural em todas as regiões brasileiras e nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (BRAGA, 2015). Considerada uma das plantas ornamentais mais cultivadas na Região Nordeste do Brasil, devido às condições edafoclimáticas favoráveis para o cultivo com qualidade, sendo os estados de Alagoas, Ceará e Pernambuco os principais produtores e exportadores dessa região (AKI; PEDROSA, 2002; JUNQUEIRA; PEETZ, 2007; JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

Os fungos, devido à ampla distribuição, elevado número de espécies fitopatogênicas e grande variedade de hospedeiros suscetíveis, são considerados um dos principais agentes associados às doenças (DEAN et al., 2012). Entre as quais, a antracnose, que configura como importante entrave enfrentado por produtores de helicônias (SARDINHA et al., 2012; SOBRINHO et al., 2015). Ghini et al. (2011) relataram que condições de temperatura e umidade elevados tornam o ambiente propício para o desenvolvimento da doença, responsável por provocar grandes perdas em função da queda de qualidade e custo de produção. No Brasil, a ocorrência da antracnose em espécies de helicônias foi relatada em vários estados, causando prejuízos diretos, pela redução do valor das flores para o comércio, em consequência de os sintomas deixarem as hastes florais impróprias para a comercialização, e indiretos, através do alto custo no manejo da cultura (SOLOGUREN; JULIATTI 2007; SARDINHA et al., 2012; SOBRINHO et al., 2015).

No campo, os problemas ocasionados por fitopatógenos são comumente minimizados por meio do sistema convencional de produção agrícola (MARIANI et al., 2015; AMORIM et al., 2018), que se baseia no emprego de agrotóxicos de alta periculosidade, e, quando utilizados incorretamente, provocam desequilíbrios biológicos e ecológicos (TAKESHITA et al., 2014), além de complicações a saúde humana (SHEAHAN et al., 2017). Todavia, o controle químico realizado de forma adequada e consciente é um dos mais importantes métodos de manejo de doenças, considerado eficiente e economicamente viável, garantindo alta produtividade e qualidade da produção (AMORIM et al., 2018). Contudo, a cultura da helicônia não possui nenhum fungicida registrado pelo Ministério da Agricultura (AGROFIT, 2023). Além do mais, há uma escassez na literatura científica em relação ao controle da

antracnose em helicônias, apenas recomendações em alguns estudos (MOSCA et al., 2005; SOSOF et al., 2006; LAMAS, 2007).

Considerado como importante patógeno de plantas, *Colletotrichum* spp. são responsáveis por causar uma variedade de doenças, incluindo a antracnose em diversas culturas econômicas (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; DOYLE et al., 2013; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022). Dean et al. (2012) relataram que o gênero foi eleito mundialmente, o oitavo grupo mais importante de fungos patogênicos causando doenças em plantas. O gênero *Colletotrichum* abrange atualmente 280 espécies aceitas com dados moleculares, dentre elas, 15 são espécies isoladas (*singleton*) e as outras 265 espécies estão agrupadas em um dos 16 complexos reconhecidos (LIU et al., 2022). Estudos realizados por meio de caracterização morfológica (SOLOGUREM e JULIATTI 2007; LÓPEZ-VÁSQUEZ et al., 2013; SILVA et al., 2015a) e caracterização molecular utilizando a região ITS-DNA (BARGUIL et al., 2009; BARGUIL et al., 2011; GURGEL et al., 2014) relataram que somente a espécie *C. gloeosporioides* está associada à antracnose em helicônias no mundo.

A identificação de espécies do gênero *Colletotrichum* está baseada atualmente em uma abordagem polifásica que compreende o emprego de análises filogenéticas multi-locus associadas a características morfoculturais e patogênicas (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; SHARMA et al., 2013; VIEIRA et al., 2020). Essa nova abordagem tem contribuído de forma significativa para compreensão do gênero, proporcionando uma identificação mais precisa das espécies, solucionando incertezas provocadas pelos antigos critérios de classificação e ampliando o registro de novas espécies em diferentes hospedeiros (CANNON et al., 2012; HOU et al., 2016; DAMM et al., 2019; VIEIRA et al., 2020; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022). Nesse contexto, é necessário a identificação precisa das espécies de *Colletotrichum* no gênero *Heliconia*, para compreensão sobre a etiologia da doença e estabelecimento de manejo apropriado (HUANG et al., 2013; LIMA et al., 2013).

As espécies de *Colletotrichum* possuem comportamento diferenciado em relação aos diferentes fungicidas, podendo este conhecimento ser aplicado para auxiliar e direcionar a escolha dos ingredientes ativos mais eficientes para o controle da antracnose (LIMA et al., 2015). Desta forma, estudos comparativos em função do efeito dos diferentes fungicidas sobre as distintas espécies que ocorrem em helicônias necessitam ser desenvolvidos com o

propósito de evitar a resistência dos patógenos pela utilização indiscriminada desses produtos químicos.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Identificar as espécies do gênero *Colletotrichum* através da caracterização molecular e morfo cultural obtidas a partir de plantas da família Heliconiaceae em diferentes espécies: *Heliconia* sp., *H. bihai*, *H. rauliniana*, *H. rostrata* e *H. psittacorum* além de avaliar a sensibilidade do crescimento micelial destas espécies a fungicidas distintos.

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Realizar teste de patogenicidade.
- ✓ Realizar análise multi-locus para identificação das espécies do gênero *Colletotrichum* em plantas da família Heliconiaceae.
- ✓ Realizar estudos sobre as características morfológicas e culturais das espécies do gênero *Colletotrichum*.
- ✓ Avaliar o efeito dos fungicidas Amistar Top (Azoxistrobina + Difenconazol) e Score 250 CE (Difenconazol) sobre o crescimento micelial das espécies identificadas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A Cultura da Helicônia

As helicônias são plantas herbáceas, perenes com brácteas coloridas e brilhantes. O gênero *Heliconia*, anteriormente era incluído na família Musaceae, mas atualmente possui único gênero pertencente à família Heliconiaceae da ordem Zingiberales (KRESS, 1990; NAKAI, 1941; USDA, 2022). Originárias da América Tropical, as espécies do gênero normalmente são encontradas na América Central e do Sul, e nas ilhas do Pacífico Sul (CRILEY; BROCHAT, 1992).

Através da criação da *Heliconia Society Internacional*, muitas informações técnicas de cultivo e conhecimento geral foram estabelecidas e compartilhadas entre botânicos, horticulturistas e entusiastas, com propósito de obter estudos e descrições pertinentes sobre as helicônias (BERRY; KRESS, 1991). No gênero *Heliconia*, ocorre divergência em relação ao número de espécies, pois, estima-se que 250 delas são inicialmente distribuídas nos países neotropicais. No entanto, estudos baseados em trabalhos originais, nacionais e internacionais, além de livros que foram publicados entre 1880 e 2002, relataram a identificação de 182 espécies na Região Neotropical e nas Ilhas do Pacífico (BERRY; KRESS, 1991; CASTRO et al., 2007). Atualmente, existem 204 espécies aceitas e 176 sinonímias registradas (THE PLANT LIST, 2013; WORD FLORA ONLINE, 2023).

As espécies do gênero *Heliconia* ocorrem majoritariamente em regiões úmidas, entretanto, existem outras que são adaptadas a áreas sazonalmente secas, sendo encontrado a pleno sol ou em lugares sombreados de florestas primárias (CRILEY; BROCHAT, 1992). Castro et al. (2007) relataram que o maior número de espécies e subespécies descritas possuem ocorrência natural na Colômbia (94), Equador (60), Panamá (56), Costa Rica (47), Brasil (37), Peru (32), Venezuela (26), Nicarágua (22), Guatemala (16), Bolívia (15), Honduras, México (14) e Suriname (13), além de confirmarem a região da América do Sul como um dos centros de diversificação do gênero, em decorrência do grande número de espécies.

No Brasil, existem duas áreas de distribuição geográfica e diversidade para helicônia, a Bacia Amazônica e a Mata Atlântica costeira ou litorânea. Espécies de importância ornamental como a *Heliconia spathocircinata* e *H. psittacorum* são comuns em ambas às áreas (KRESS, 1990). No entanto, as helicônias possuem ocorrência natural em todas as regiões brasileiras e nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata

Atlântica e Pantanal (BRAGA, 2015). São conhecidas popularmente como pacová, banana-do-mato, bico-de-guará, caetê, pássaro-de-fogo, paquevira, falsa-ave-do-paráíso, bananeira-de-jardim, bico-de-papagaio entre outros (ATEHORTUA, 1998; MOSCA; CAVALCANTE, 2005; SILVA et al., 2015b).

A família Heliconiaceae compreende plantas com rizoma simpodial, caule ereto, aéreo e pseudocaulé formado através da sobreposição das bainhas de folhas (CRONQUIST, 1981; CRILEY; BROCHAT, 1992). Apresentando limbo, pecíolo e bainha, as folhas são opostas e dispostas em duas fileiras verticais, podendo alcançar de 0,5 a 10 m, possuem geralmente lâminas com nervuras transversais, além de tons verdes variados. Algumas espécies apresentam pelos ou cera nas folhas que se enquadram como uma causa morfológica de resistência de plantas a insetos. Uma inflorescência terminal é formada no ápice do pseudocaulé (BERRY, KRESS, 1991; GALLO et al., 2002; SILVA et al., 2015b). As helicônias são classificadas em três tipos básicos de arranjos foliares, podendo ser: musóide, quando as folhas são orientadas verticalmente em relação ao pseudocaulé e apresentam pecíolos longos, ocorrendo na maioria das espécies de modo semelhante ao das bananeiras; zingiberóide, com folhas posicionadas horizontalmente e as lâminas têm pecíolos curtos com aspecto de gengibre; e canóide, com folhas apresentando pecíolo curto ou médio, com posição oblíqua às hastes (BERRY, KRESS, 1991).

As inflorescências das helicônias são terminais, podendo ser eretas ou pendentes, sendo compostas por um pedúnculo que une o pseudocaulé à base das brácteas (SILVA et al., 2015b). As brácteas, são folhas modificadas que confere valor comercial as helicônias, apresentam colorações variadas, unidas por meio da ráquis, dispostas em um plano ou em mais de um, devido à torção das ráquis, ficando com forma espiralada, envolvendo inúmeras flores. Cada flor permanece aberta por apenas um dia, entretanto, existem várias flores por bráctea e muitas brácteas por inflorescência, a fase de florescimento é prolongada. As inflorescências possuem coloração variada, sendo amarelo, vermelho e laranja as cores predominantes (BERRY, KRESS, 1991; CRILEY BROCHAT, 1992).

Em relação às flores, são hermafroditas, com cores que podem variar do amarelo ao branco e em sua maioria são autocompatíveis, podendo ser eretas e expostas como em *H. psittacorum*, ou quase escondidas como em outras espécies (BERRY, KRESS, 1991; CRILEY BROCHAT, 1992). A propagação das helicônias pode ser feita tanto por sementes como por rizomas (CASTRO, GRAZIANO, 1997). Os frutos são caracterizados por drupas, indeiscentes com endocarpo lignificado e coloração azul escura quando maduros, medindo de

2 a 3 cm e são bem apreciados por pássaros (BERRY, KRESS, 1991; SIMÃO; SCATENA, 2003, SIMÃO et al., 2006).

3.2. Importância econômica das helicônias

A floricultura consiste em uma das atividades econômicas mais relevantes no agronegócio nacional (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). A produção de flores tropicais tornou-se uma alternativa rentável de investimento, apresentando excelente rendimento, alto valor agregado e ciclo curto, permitindo rápido retorno financeiro, se destacando economicamente como atividade crescente com alto potencial de expansão (PAULINO et al., 2013; FELISBERTO et al., 2015). Além disso, proporciona geração de emprego e renda para micro e pequenos produtores em todo o País (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). No Brasil, em 2021 apesar das dificuldades enfrentadas em decorrência a Pandemia de COVID-19, o crescimento foi constante, o setor atingiu um faturamento de cerca de R\$ 10,9 bilhões, com aumento de 15% englobando todos os setores de produção, atacado e varejo (IBRAFLOR, 2023).

As helicônias estão classificadas entre as principais espécies tropicais na cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais (IBRAFLOR, 2015). Possuem beleza exuberante exótica com diversas cores e formatos, resistência durante o manuseio, transporte e uma maior durabilidade pós-colheita e elevado atributo ornamental (ALBUQUERQUE et al., 2014; CANTOR et al., 2014; SOUZA et al., 2016). As composições de flores de helicônia podem ser usadas sozinhas ou em combinação com outras espécies exóticas, delicadas e elegantes (CANTOR et al., 2014). É considerada uma das plantas ornamentais mais cultivadas na Região Nordeste do Brasil, devido às condições edafoclimáticas favoráveis para o cultivo com qualidade, sendo os estados de Alagoas, Ceará e Pernambuco os principais exportadores e produtores dessa região (AKI; PEDROSA, 2002; JUNQUEIRA; PEETZ, 2007; JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

Empregadas como flores de corte e no paisagismo, as helicônias se adaptam perfeitamente ao uso em vasos ou compondo arranjos florais (CASTRO, 2007; PINHEIRO et al., 2012). Como flores de corte, as características agrônômicas de interesse são: alta produção de hastes floridas ao longo do ano, ciclo de floração curto, hastes mais longas (>80cm), inflorescência leve para reduzir os custos de transporte, hastes com diâmetro suficiente para melhor manuseio e durabilidade pós-colheita superior a dez dias (LOGES et al., 2012; SRINIVAS et al., 2012). Considerando esses critérios, produtores de flores tropicais da região Nordeste do Brasil, selecionaram as espécies *H. rostrata* e *H. rauliniana* por apresentarem

maior produção, boa aceitação no mercado e durabilidade pós-colheita superior a dez dias. Já as espécies *H. chartacea* (Sexy, Pink e Sexy Scarlet), *H. pendula* e *H. collinsiana* podem deixar de ser cultivadas, por não atenderem as características de interesse, pois apresentam menor produção, baixa aceitação no mercado e durabilidade inferior a dez dias (LOGES et al., 2015).

Santos et al. (2020) realizaram uma pesquisa com o objetivo de analisar a viabilidade econômica da produção de helicônia e outras flores, em uma propriedade rural familiar no estado do Mato Grosso. Os resultados demonstraram que o cultivo de helicônias é viável economicamente, apresentando Valor Presente Líquido (VPL) positivo, Taxa Interna de Retorno (TIR) superior à Taxa Mínima de atratividade (TMA= 11,15%), com tempo de retorno do investimento em pouco mais de dois anos em condições normais. Relatando que é possível considerar a atividade como uma alternativa de renda viável para agricultores no estado, uma vez que a floricultura tropical ainda é um nicho de mercado com forte demanda na região.

3.3. Antracnose em Helicônia

Na produção de flores de corte, as doenças configuram um importante entrave enfrentado por produtores, causando perdas significativas. Os agentes bióticos dessas doenças incluem vírus, bactérias, fungos e oomicetos (BEBBER; GURR, 2015). No entanto, os fungos são considerados um dos principais agentes associados, devido à ampla distribuição, elevado número de espécies fitopatogênicas e grande variedade de hospedeiros susceptíveis (DEAN et al., 2012).

Em ambiente favorável para desenvolvimento de patógenos, através de condições com temperatura e umidade elevadas, possibilita a ocorrência de diversas doenças, como a antracnose, responsável por danos que provocam prejuízos em função do difícil controle, pois os sintomas deixam as hastes florais impróprias para a comercialização (GHINI et al., 2011). Sologuren e Juliatti (2007) relataram que as condições climáticas de cultivo de helicônia no estado do Pernambuco, favorecem a produção de flores, com excelente qualidade, porém, as doenças limitam a produção desta espécie, causando prejuízos diretos, pela redução do valor das flores para o comércio, e indiretos, através do alto custo no manejo da cultura.

A antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, é responsável por provocar danos em várias espécies de helicônia (BARGUIL et al., 2009). O patógeno afeta folhas e toda a inflorescência, causando sintomas como o surgimento de vários pontos de

coloração escura nas brácteas, sendo possível constatar quando observado de perto, a presença de uma massa de esporos de cor alaranjada, característica do patógeno (LINS; COELHO, 2004; KIMATI et al., 2005). Nas folhas apresenta como sintomas típicos: manchas foliares de coloração marrom ou negra, com bordos bem definidos, influenciando a taxa fotossintética e reduzindo a produção. Caso o patógeno atinja a parte comercial da cultura inviabiliza sua comercialização (SARDINHA et al., 2012).

No Brasil, a ocorrência da antracnose em espécies de helicônia é relatada em vários estados. Sobrinho et al. (2015) estudando a ocorrência de doenças, através de sintomas e sinais em folhas e pseudocaule, verificou que a doença de maior ocorrência em *Helicônia* spp. na região Litoral Sul da Bahia é a antracnose. Na cidade de Uberlândia-MG, Sologurem e Juliatti (2007) ao avaliar a frequência de ocorrência dos fungos mais encontrados em folhas, por meio de características morfológicas, relataram que nas análises de brácteas, foi encontrada apenas a espécie *C. gloeosporioides*, em *H. rostrata*. Em Pernambuco, Lins e Coelho (2004) ao realizar a diagnose das doenças, considerando os sintomas e sinais, verificaram a ocorrência da antracnose nas espécies *H. stricta*, *H. psittacorum* cv. Golden Torch, *H. bihai*. Barguil et al. (2009) identificaram através de características morfológicas e moleculares utilizando a região ITS-DNA, isolados de *C. gloeosporioides* coletados de várias espécies de helicônia em diversas cidades da Paraíba, Ceará e Pernambuco.

Estudos de identificação do gênero *Colletotrichum* em helicônias ainda são poucos. Visto que são escassos os levantamentos de gêneros fúngicos e identificações baseadas em técnicas morfológicas (SOLOGUREM e JULIATTI 2007; SARDINHA et al., 2012; LÓPEZ-VÁSQUEZ et al., 2013; SILVA et al., 2015a) e moleculares (BARGUIL et al., 2009; BARGUIL et al., 2011; GURGEL et al., 2014), sendo *C. gloeosporioides* a única espécie relatada.

3.4. Gênero *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum* pertence ao grupo dos fungos anamórficos e está inserido na classe-forma Celomicetos (AMORIM et al., 2011). A fase sexual (teleomorfo), quando identificada, é atribuída ao gênero *Glomerella*, inserida no filo Ascomycota. Tanto a fase sexual, como assexual estão acondicionadas na classe Sordariomycetes, ordem Glomerellales e família Glomerellaceae (ZHANG et al., 2006; RÉBLOVÁ et al., 2011).

Em relação à morfologia, as principais características do gênero *Colletotrichum* são: micélio septado; conidioma em acérvulo, geralmente pouco desenvolvido e frequentemente

possuindo setas de coloração escuras bem desenvolvidas; conidióforos não muito desenvolvidos, apresentando pequenas células conidiogênicas aglomeradas no formato de frasco, possuindo conidiogênese enteroblástica; conídios cilíndricos, fusiformes ou semilunares, hialinos, de paredes finas e unicelulares que germinam produzindo apressórios de cor marrom-escuros apresentando formato circular a irregular (PUTZKE, J.; PUTZKE, M., 2002; CANNON; KIRK, 2007; LINS et al., 2007).

Considerado como importante patógeno de plantas, *Colletotrichum* spp. são responsáveis por causar uma variedade de doenças, incluindo a antracnose em diversas culturas econômicas e plantas ornamentais (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; DOYLE et al., 2013; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al. 2022). As espécies ocasionam infecções latentes ou quiescentes nos estágios de pré-colheita e pós-colheita (SUTTON, 1992). O gênero engloba espécies com estilos de vida hemibiotróficos, saprofíticos e endofíticos (DEAN et al., 2012; GAN et al., 2013; JAYAWARDENA et al., 2016; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022).

O primeiro relato de *Colletotrichum* foi feito por Tode (1790) no gênero *Vermicularia*, enquanto o nome genérico *Colletotrichum* foi introduzido por Corda (1831). No entanto, a taxonomia do gênero foi considerada confusa e várias revisões foram efetuadas ao longo dos anos (VON ARX, 1957, SUTTON, 1980; HYDE et al., 2009; CANNON et al., 2012; JAYAWARDENA et al., 2016; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022).

O trabalho realizado por micologistas durante o século XIX e início do século XX, resultou em numerosos nomes de fungos, cerca de 750 foram incluídos em *Colletotrichum*, baseados na especificidade do hospedeiro (CANNON et al., 2012). Von Arx (1957) trouxe um grande impacto sobre a taxonomia de *Colletotrichum*, reduzindo o número de espécies do gênero de várias centenas a 11, com base em características morfológicas. Além disso, espécies fúngicas dos gêneros *Colletotrichum*, *Vermicularia* e *Gloeosporium* foram consideradas pertencentes a um mesmo gênero, sendo conservado o nome *Colletotrichum*. Contudo, Von Arx realizou a identificação desses táxons baseando-se em descrições de literatura e não na avaliação de espécies-tipo. Ao observar esta incoerência no trabalho de Von Arx, Sutton (1980), reconheceu 22 espécies no gênero, baseado na morfologia e características culturais. Estudos baseados nestas características continuaram a elevar o

número de espécies para 40 em Sutton (1992) e 60 no Dicionário de Fungos (KIRK et al., 2008).

As primeiras aplicações do DNA para diferenciar espécies de *Colletotrichum* foram registradas após o início da década de 1990, resultando em um rápido aumento no número de artigos, empregando métodos moleculares para esclarecer as relações dentro do gênero. A princípio, a maior parte dos estudos estava sendo baseados em análises da região ITS-rDNA, mas outras regiões genômicas começaram a ser aplicadas em análises filogenéticas multi-locus (SREENIVASAPRASAD et al., 1992; SHERRIFF et al., 1994; JOHNSTON; JONES, 1997; TALHINHAS et al., 2002; GUERBER et al., 2003; DU et al., 2005).

Vários trabalhos retratam as limitações das características morfoculturais e o emprego de apenas uma região genômica na delimitação de espécies do gênero, especialmente da região ITS-rDNA (CAI et al., 2009; HYDE et al., 2009; DAMM et al., 2009; CANNON et al., 2012; SHARMA et al., 2013). Estudo realizado por Hyde et al. (2009) ressaltaram a necessidade de epitificação das espécies e a aplicação de análises filogenéticas multi-locus, com genes que sejam mais informativos para uma identificação confiável e precisa das espécies. Cai et al. (2009) recomendaram a aplicação de uma abordagem polifásica que engloba o emprego de dados moleculares, morfológicos, fisiológicos e relacionados à patogenicidade, pois o modelo antigo de classificação foi responsável por tornar os limites das espécies ambíguos e incertos.

Dessa forma, as análises filogenéticas multi-locus se tornaram normas, sendo as principais regiões genômicas empregadas: gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), actina (*ACT*), quitina sintetase (*CHS-I*), β -tubulina (*TUB2*), calmodulina (*CAL*), histona (*HIS3*), glutamina sintetase (*GS*), superóxido-dismutase de manganês (*SOD*) e a região do espaçador interno transcrito (ITS) (CANNON et al., 2012; WEIR et al., 2012).

Contudo, Vieira et al. (2020) estudando os marcadores ideais para a identificação de *Colletotrichum* spp. calcularam a distância do intervalo do código de barras e a sobreposição da distância intra/interespecífica para avaliar cada um dos marcadores moleculares mais comumente aplicados quanto à sua utilidade como código de barras para identificação de espécies. Os marcadores, Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), histona-3 (*HIS3*), DNA liase (*APN2*), espaçador intergênico entre DNA liase e o locus do tipo de acasalamento MAT1-2-1 (*APN2/MAT-IGS*) e espaçador intergênico entre *GAPDH* e uma proteína hipotética (*GAP2-IGS*) têm as propriedades de bons códigos de barras, enquanto sequências de actina (*ACT*), quitina sintase (*CHS-1*) e espaçadores transcritos internos de rDNA nuclear

(nrITS) não são capazes de distinguir a maioria das espécies. Indicado como barcode secundário, o gene *GAPDH* tem sido empregado na identificação de espécies do gênero, em razão da sua combinação com outros genes, que tem possibilitado diferenciar a maioria dos táxons de forma confiável (WEIR et al., 2012; VIEIRA et al., 2020) sendo aplicado como medida inicial de diversidade em vários estudos de identificação de espécies do gênero *Colletotrichum*, associadas a um hospedeiro específico (LIMA et al., 2013; SHARMA; SHENOY, 2013; LIU et al., 2016; SILVA et al., 2017; WACULICZ-ANDRADE et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018; VIEIRA et al., 2020).

Nesse contexto, Liu et al. (2022) realizaram um estudo do gênero, onde diversas espécies foram revisadas e tipificadas ou recém-descritas e muitos complexos de espécies foram detectados. O gênero *Colletotrichum* abrange atualmente 280 espécies aceitas com dados moleculares, dentre elas, 15 são espécies isoladas (*singleton*) e as outras 265 espécies estão agrupadas em um dos 16 complexos reconhecidos: *C. gloeosporioides*, *C. gigasporum*, *C. boninense*, *C. acutatum*, *C. graminicola*, *C. caudatum*, *C. spaethianum*, *C. destructivum*, *C. dematium*, *C. truncatum*, *C. orbiculare*, *C. dracaenophilum*, *C. magnum*, *C. orchidearum*, *C. agaves* e *C. bambusicola* (CROUCH; INGUAGIATO, 2009; DAMM et al., 2009; CANNON et al., 2012; DAMM et al., 2012a; DAMM et al., 2012b; WEIR et al., 2012; DAMM et al., 2013; CROUCH, 2014; DAMM et al., 2014; HYDE et al., 2014; LIU et al., 2014; LIU et al., 2015; HOU et al., 2016; JAYAWARDENA et al., 2016; BHUNJUN et al., 2019; DAMM et al., 2019; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al. 2022).

3.5. Controle da Antracnose em Helicônias

As doenças causadas por patógenos são responsáveis por afetar o rendimento e variação da produtividade na produção de flores de corte (BEBBER; GURR, 2015). Desse modo é necessário realizar o controle de doenças envolvendo o emprego dos seguintes princípios: exclusão, erradicação, proteção, resistência e terapia, sendo aplicados por meio dos métodos de controle cultural, genético, biológico, físico e químico (AMORIM et al., 2018).

O controle cultural visa erradicar ou reduzir a população do patógeno através de práticas culturais, preferencialmente combinadas. Já o controle genético é baseado no emprego de espécies ou cultivares resistentes e indução de resistência da planta, considerado método ideal de controle, por ser aplicável em largas áreas e possuir baixo impacto ambiental. Os biológicos estão relacionados ao uso de organismos não patogênicos para controlar outro

microrganismo patogênico. O controle físico utiliza fatores físicos para controlar doenças de plantas, através da temperatura e radiação. Outra estratégia é o controle químico de doenças de plantas, baseado na utilização de moléculas orgânicas ou inorgânicas, obtidas naturalmente ou sintetizadas para a proteção das plantas contra os patógenos (AMORIM et al., 2018).

Nos cultivos agrícolas, as doenças causadas por fungos são geralmente manejadas mediante emprego do sistema convencional de produção (MARIANI et al., 2015; AMORIM et al., 2018). Ao qual é baseado na utilização de agrotóxicos de alta periculosidade, que, quando aplicados incorretamente, propiciam desequilíbrios biológicos e ecológicos (TAKESHITA et al., 2014), além de complicações a saúde humana (SHEAHAN et al., 2017). Contudo, o controle químico efetuado de forma adequada e consciente é tido como um dos mais importantes métodos de manejo de doenças, eficiente e economicamente viável, proporcionando alta produtividade e qualidade da produção (AMORIM et al., 2018).

Os fungicidas são empregados para evitar processos de sobrevivência, disseminação, infecção, colonização e reprodução de fungos e oomicetos que ocasionam doenças de plantas. Contudo, esses produtos podem apresentar maior ou menor especificidade às diferentes classes taxonômicas de fungos e oomicetos. Esses agrotóxicos são aplicados como erradicantes, atuando na sobrevivência, protetores impedindo a infecção, e curativos apresentando efeitos sobre a colonização (AMORIM et al., 2018).

Nesse sentido, esses produtos são classificados pela natureza química e pelo seu modo de ação, podendo ser protetores, curativos, sistêmicos e mesostêmicos (KIMATI, 2011; AMORIM et al., 2018). Os fungicidas protetores são considerados efetivos quando aplicados antes da penetração do patógeno no tecido do hospedeiro, formando uma barreira que impede a sua penetração, inibindo a germinação dos esporos. Fungicidas sistêmicos são absorvidos pela planta e translocados para outras partes inibindo a proliferação do patógeno. Já os fungicidas mesostêmicos são aqueles que se movem a curta distância na folha, penetrando somente na cutícula permanecendo nela (AMORIM et al., 2018).

A cultura da helicônia não possui nenhum fungicida registrado pelo Ministério da Agricultura (AGROFIT, 2023). No entanto, quando pesquisado na plataforma do Agrofit produtos registrados para controle da doença Antracnose abrangendo de forma geral, colocando na opção cultura às plantas ornamentais na consulta, aparecem oito produtos registrados, de grupos químicos distintos, como: Estrobilurina; Isoftalonitrila e Triazol, além de misturas empregando Carboxamida + Estrobilurina e Estrobilurina + Triazol (AGROFIT, 2023).

Dessa forma, para a cultura em específico, há uma escassez na literatura científica em relação ao controle da antracnose em helicônias, apenas recomendações em alguns estudos. Lamas (2007) recomenda o emprego da calda bordalesa, calda sulfocálcica e pulverizações com fungicidas sistêmicos e de contato, relatando que os melhores resultados são obtidos com produtos à base de Mancozeb na dosagem de 2 g/litro de solução com intervalo de 21 dias. Sosof et al. (2006) relataram que a aplicação de fungicidas como Ronilan, Rovral e composto cúprico como o Python-20 foram aprovados para o uso de flores e são eficazes para o controle de doenças. No processo pós-colheita, Mosca et al. (2005) recomendaram que o tratamento com fungicida seja realizado com imersão da haste completa, por um minuto, em solução de captan (1g/L) e azodrin (1mL/L), exceto em helicônias que não podem ter as inflorescências imersas.

Nos estudos que recomendam o controle químico da doença causado por fungos do gênero *Colletotrichum*, somente as espécies *C. gloeosporioides* (LAMAS, 2007) e *C. musae* (SOSOF et al., 2006) foram relatadas ocorrendo na cultura da helicônia. No entanto, as espécies de *Colletotrichum* possuem comportamento diferenciado em relação aos diferentes fungicidas, podendo este conhecimento ser aplicado para auxiliar e direcionar a escolha dos ingredientes ativos mais eficientes para o controle da antracnose (LIMA et al., 2015). Nesse contexto, estudos comparativos em função do efeito dos diferentes fungicidas sobre as distintas espécies que ocorrem em helicônias necessitam ser desenvolvidos com o propósito de evitar a resistência dos patógenos pela utilização indiscriminada desses produtos químicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT/MAPA – SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: Janeiro de 2023.

AKI, A.; PEDROSA, J. M. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 8 n. 1/2, p. 13-23, 2002. <https://doi.org/10.14295/rbho.v8i1.304>.

ALBUQUERQUE, A. W.; SANTOS, J. M.; FARIAS, A. P. Produtividade e qualidade pós-colheita de helicônia Golden Torch submetida a fonte e doses de silício. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 2, p. 173-179, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662014000200007>.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4 ed. v. 1. Piracicaba: Agronômica Ceres, 704 p., 2011.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. B. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018. 561p.

ATEHORTUA, L. **Aves Del Paraíso, Gingers, Heliconias**. Santa fé de Bogotá, D. C., Colômbia: HortiTecnia Ltda., 66 p. 1998.

BARGUIL, B. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; COELHO, R. S. B.; PESSOA, W. R. L. S. Agressividade e produção de exoenzimas de *Colletotrichum* isolados de plantas ornamentais tropicais. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, p. 200-204, 2011. <https://doi.org/10.5216/pat.v41i2.9024>.

BARGUIL, B. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; COELHO, R. S. B.; JÚNIOR, J. E. A. B. Identificação e variabilidade genética de isolados de *Colletotrichum* causando antracnose em inflorescências de plantas ornamentais tropicais. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1639-1646 2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000126>.

BEBBER, D. P.; GURR, S. J. Crop-destroying fungal and oomycete pathogens challenge food security. **Fungal Genetics and Biology**, v. 74, p. 62-64, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.10.012>.

- BERRY, F.; KRESS, W. J. **Heliconia: an identification guide**. Honk Kong: Smithsonian Institution, 334p. 1991.
- BHUNJUN, C. S.; JAYAWARDENA, R. S.; WEY, P.; HUANRALUEK, N.; ABEYWICKRAMA, P. D.; JEEWON, R.; MONKAI, J.; HYDE, K. Multigene phylogenetic characterisation of *Colletotrichum artocarpicola* sp. nov. from *Artocarpus heterophyllus* in northern Thailand. **Phytotaxa**, v. 418, n. 3, 2019. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.418.3.3>.
- BRAGA, J. M. A. 2015. Heliconiaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7954>>. Acesso em 27 Jul. 2019.
- CAI L.; HYDE, K. D.; TAYLOR, P. W. J.; WEIR, B.; WALLER, J. M.; ABANG, M. M.; ZANG, J. C.; YANG, Y. L.; PHOULIYONG, S.; PRIHASTUTI, Z. Y.; SHIVAS R. G.; MCKENZIE, E. H. C.; JOHNSTON, P. R. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, v. 39, p.183–204, 2009.
- CANNON, P. F.; KIRK, P. M. (Ed.). **Fungal families of the world**. Cambridge, UK: CAB International, 456 p., 2007.
- CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum*-current status and future directions. **Studies Mycology** v. 73, p. 181–213, 2012. <https://doi.org/10.3114%2Fsim0014>
- CANTOR, M.; SINGUREANU, V.; DENISA, H.; ERSZEBET, B. Heliconias-Novelties and applicability in floral art. **Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology**, v.18, n.1, p. 22-27, 2014. <http://journalhfb.usab-tm.ro/2014/Li>.
- CASTRO, C. E. F.; GRAZIANO, T. T. Espécies do gênero *Heliconia* (Heliconiaceae) no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 3, p. 15-28, 1997.
- CASTRO, C. E. F.; MAY, A.; GONÇALVES, C. Espécie de helicônia como flor de corte. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 12, n. 2, p. 87-92, 2007.
- CORDA, A. C. I. Die Pilze Deutschlands (ed. J. Sturm). Deutschlands Flora, 3. Abtheilung v. 3, p. 1-144, 1831.
- CRILEY, R. A.; BROCHAT, K. Heliconia: botany and horticulture of new floral crop. **Horticultural Review**, v. 14, p. 1-55, 1992.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Columbia University Press, New York, p. 1157-1172, 1981.

CROUCH, J. A. *Colletotrichum caudatums*. I. is a species complex. **IMA Fungus**, v. 5, n. 1, p. 17-30, 2014. <https://doi.org/10.5598%2Fima fungus.2014.05.01.03>

CROUCH, J. A.; INGUAGIATO, J. C. First report of anthracnose disease of ornamental feather reed grass (*Calamagrostis x acutifolia* ‘Karl Foerster’) caused by *Colletotrichum cereale*. **Plant Disease**, v.93, n. 2, p. 203, 2009. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-93-2-0203A>

DAMM, U.; CANNON, P. F.; LIU, F.; BARRETO, R. W.; GUATIMOSIM, E. CROUS, P. W. The *Colletotrichum orbiculare* species complex: Important pathogens of field crops and weeds. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 29-59, 2013. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0255-4>

DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDENBERG, J. H.; CROUS, P. W. *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, n. 1 p. 37-113, 2012a. <https://doi.org/10.3114/sim0010>

DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDENBERG, J. H.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S.; TAN, Y. P.; SHIVAS, R. G.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 1-36, 2012b. <https://doi.org/10.3114/sim0002>

DAMM, U.; O’CONNELL, R. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum destructivum* species complex – hemibiotrophic pathogens of forage and field crops. **Studies in Mycology**, v. 79, p. 49-84, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.003>

DAMM, U.; SATO, T.; ALIZADEH, A.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. **Studies in Mycology**, v. 92, p. 1-46, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.04.001>

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

DEAN, R.; KAN, J. A. L. V.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G. D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>

DOYLE, V. P.; OUDEMANS, P. V.; REHNER, S. A.; LITT, A. Habitat and host indicate lineage identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. from wild and agricultural landscape in North America. **PLoS ONE** v. 8, n. 5, p. 1–21, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062394>

DU, M.; SCHARDL, C. L.; NUCKLES, E. M.; VAILLANCOURT, L. J. Using mating-type gene sequences for improved phylogenetic resolution of *Colletotrichum* species complexes. **Mycologia**, v. 97, n. 3, p. 641-658, 2005. <https://doi.org/10.3852/mycologia.97.3.641>

FELISBERTO, T. S.; SILVA, D. O.; SOUZA FILHO, J. R.; SANTOS, W. J.; DEON, M. D.; MARINHO, L. B. Evapotranspiração e coeficiente de cultivo da helicônias Golden torch no vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 9, n. 5, p. 335-343, 2015. <https://doi.org/10.7127/rbai.v9n500331>

GALLO, D. et. al. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 649p. 2002.

GAN, P.; IKEDA, K.; IRIEDA, H.; NARUSAKA M.; O'CONNELL R. J.; NARUSAKA, Y.; TAKANO, Y.; KUBO, Y.; SHIRASU, K. Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal the hemibiotrophic stage shift of *Colletotrichum fungi*. **New Phytologist**, v. 197, p. 1236-1249, 2013. <https://doi.org/10.1111/nph.12085>

GHINI, R; HAMADA, E.; BETTIOL, W. **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 356 p., 2011. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/905258>>. Acesso: Maio de 2021.

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**, v. 95, n. 5, p. 872-895, 2003.

GURGEL, L. M. S.; COELHO, R. S. B.; SILVA, R. L. X.; OLIVEIRA, S. M. A.; ROSA, R. C. T.; ASSIS, T. C.; ANDRADE, D. E. G. T. Metodologia alternativa no manejo da antracnose pós-colheita em *Heliconia rostrata*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 19, n. 1, p. 20-24, 2014. <https://doi.org/10.12661/pap.2014.004>

HOU, L. W.; LIU, F.; DUAN, W. J.; CAI, L. *Colletotrichum aracearum* and *C. camelliae-japonicae*, two holomorphic new species from China and Japan. **Mycosphere**, v. 7, n.8, p. 1111-1123, 2016. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/si/2c/4>

HUANG, F.; CHEN, G. Q.; HOU, X.; FU, Y. S.; CAI, L.; HYDE, K. D.; LI, H. Y. *Colletotrichum* species associated with cultivated citrus in China. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 61–74, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-013-0232-y>

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 Divers**, v. 39, p.147–182, 2009.

HYDE, K. D.; NILSSON, R. H.; ALIAS, S. A.; ARIYAWANSA, H. A.; BLAIR, J. E.; CAI, L.; COCK, A. W. A. M.; DISSANAYAKE, A. J.; GLOCKLING, S. L.; GOONASEKARA, I. D.; GORCZAK, M.; HAHN, M.; JAYAWARDENA, R. S.; KAN, J. A. L. V.; LAURENCE, M. H.; LÉVESQUE, C. A.; LI, X.; LIU, J. K.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; MANAMGODA, D. S.; MARTIN, F. N.; MCKENZIE, E. H. C.; MCTAGGART, A. R.; MORTIMER, P. E.; NAIR, P. V. R.; PAWŁOWSKA, J.; RINTOUL, T. L.; SHIVAS, R. G.; SPIES, C. F. J.; SUMMERELL, B. A.; TAYLOR, P. W. J.; TERHEM, R. B.; UDAYANGA, D. VAGHEFI, N.; WALTHER, G.; WILK, M.; WRZOSEK, M.; XU, J. C.; YAN, J.; ZHOU, N. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I. **Fungal Diversity**, v. 67, n. 1, p. 21-125, 2014. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0298-1>

IBRAFLOR - INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **Mapeamento e Quantificação da Cadeia de Flores e Plantas Ornamentais do Brasil** / [coordenação e organização Marcos Fava Neves; Mairun Junqueira Alves Pinto]. – São Paulo: OCESP, 2015. Disponível em: <<https://www.ibraflor.com.br/numeros-setor>>. Acesso: Julho de 2019.

IBRAFLOR – INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **Números do Setor - Flores em números**. Disponível em: <<https://www.ibraflor.com.br/numeros-setor>>. Acesso: Fevereiro de 2023.

- JAYAWARDENA, R. S. HYDE, K. D.; DAMM, U.; CAI, L.; LIU, M.; LI, X. H.; ZHANG, W.; ZHAO, W. S.; YAN, J. Y. Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. **Mycosphere**, v. 7, n. 8, p. 1192-1260, 2016. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/si/2c/9>
- JAYAWARDENA, R. S.; BHUNJUN, C. S.; HYDE, K. D.; GENTEKAKI, E. ITTHAYAKORN, P. *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. **Mycosphere**, v. 12, p. 519–669, 2021. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/12/1/7>.
- JAYAWARDENA, R. S.; BHUNJUN, C. S.; HYDE, K. D.; GENTEKAKI, E. ITTHAYAKORN, P. *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. **Mycosphere**, v. 12, p. 519–669, 2021. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/12/1/7>.
- JOHNSTON, P. R.; JONES, D. Relation ships among *Colletotrichum* isolates from fruit-rots assessed using rDNA sequences. **Mycologia**, v. 89, n. 3, p. 420-430, 1997. <http://dx.doi.org/10.1080/00275514.1997.12026801>
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Las exportaciones brasileñas de flores y plantas ornamentales crescem más del 124% entre 2001 y 2006. **Horticultura Internacional**, v. 1, n. 56, p. 76-78, 2007.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014. <http://dx.doi.org/10.14295/rbho.v20i2.727>
- KIMATI, H. Controle químico. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, 704p., 2011.
- KIMATI, H; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 663p., 2005.
- KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. **Dictionary of the fungi**. 10th Edition, Wallingford: CABI Europe – UK, 784 p., 2008.

- KRESS, J. The diversity and distribution of *Heliconia* (Heliconiaceae) in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 159-167, 1990. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061990000100011>
- LAMAS, A. M. Controle de Pragas e Doenças em Floricultura Tropical - **Fitossanidade na Amazônia: Inovações Tecnológicas**, p. 143-160, 2007.
- LIMA, N. B.; BATISTA, V. A. M.; MORAIS, M. A. J.; BARBOSA, M. A. G.; MICHEREFF, S. J.; HYDE, K. D.; CÂMARA, M. P. S. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 75–88, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-013-0237-6>
- LIMA, N. B.; LIMA, W. G.; TOVAR-PEDRAZA, J. M.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 4, p. 679-688, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-014-0570-y>
- LINS, S. R. O.; ABREU, M. S.; ALVES, E. Histopathologic study of *Colletotrichum* spp. in coffee plant lets. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 488-495, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582007000600006>
- LINS, S. R. O.; COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582004000300019>
- LIU, F.; CAI, L.; CROUS, P. W.; DAMM, U. The *Colletotrichum gigasporum* species complex. **Persoonia**, v. 33, p. 83-97, 2014. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/popset/683431180>
- LIU, F.; MA, Z. Y.; HOU, L. W.; DIAO, Y. Z.; WU, W. P.; DAMM, U.; SONG, S.; CAI, L. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. **Studies in Mycology**, v. 101, p. 1–56, 2022. <https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.01>
- LIU, F.; TANG, G.; ZHENG, X.; LI, Y.; SUN, X.; QI, X.; ZHOU, Y.; XU, J.; CHEN, H.; CHANG, X.; ZHANG, S.; GONG, G. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. **Scientific Reports**, v. 6, n. 32761, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep32761>
- LIU, F.; WEIR, B. S.; DAMM, U.; CROUS, P. W.; WANG, Y.; LIU, B.; WANG, M.; ZHANG, M.; CAI, L. Unravelling *Colletotrichum* species associated with *Camellia*:

employing ApMat and GS loci to resolve species in the *C. gloeosporioides* complex. **Persoonia**, v. 35, p. 63-86, 2015. <https://doi.org/10.3767%2F003158515X687597>

LOGES, V.; CASTRO, C. E. F.; GUIMARÃES, W. N. R.; COSTA, A. S.; LIMA, T. L. A.; LEITE, K. P. Agronomic traits of Heliconia for cut flowers use and molecular markers. **Acta Horticulturae**, v. 937, p. 535-543, 2012. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.1000.14>

LOGES, V.; TEXEIRA, M. C. F.; SILVA, S. S. L.; LAGO, P. G. P.; SILVA, S. Á. C. G.; LIMA, T. L. A.; CASTRO, A. C. R. On farm heliconia cut flower selection in Pernambuco - Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 1104, p. 455- 462, 2015. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1104.65>

LÓPEZ-VÁSQUEZ, J. M.; MARULANDA, M. L.; LÓPEZ, A. M. Factores climáticos y su influencia em la expresión de enfermedades fúngicas en cultivares de Heliconias. **Universitas Scientiarum**, v. 18, n. 3, p. 331- 344, 2013. <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.SC18-3.fcie>

MARIANI, C. M.; HENKES, J. A. Agricultura orgânica x Agricultura convencional, soluções para minimizar o uso de insumos industrializados. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, v. 3, n. 2, p. 315-338, 2015. <https://doi.org/10.19177/rgsa.v3e22014315-338>

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, R. A. Heliconiaceae. In: TERAPO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. S. F. Flores tropicais: Tropical flowers. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 85-101. 2005. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11779/1/FP09001.pdf>

MOSCA, J. L.; QUEIROZ, M. B.; ALMEIDA, A. S.; CAVALCANTE, R. A.; ALVES, R. E. Helicônia: Descrição, Colheita e Pós-Colheita. Embrapa Agroindústria Tropical, 1ª edição, 32 p., 2005. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/419441>

NAKAI, T. Notulae ad Plantas Asiae et Orientalis. **Journal of Japanese Botany**, v. 17, p. 1-15, 1941.

OLIVEIRA, L. F. M.; FEIJÓ, F. M.; MENDES, A. L. S. F.; NETO, J. D. V. Identification of *Colletotrichum* species associated with brown spot of cactus prickly pear in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 3, p. 247-253, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0215-3>.

PAULINO, A. S.; ALBUQUERQUE, A. W.; MOURA FILHO, G. M.; PEREIRA, F. R. Helicônia “Golden Torch”: Produtividade e qualidade pós colheita sob diferentes fontes e

doses de silício. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, p. 615-621, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662013000600007>

PINHEIRO, P. G. L.; LEITE, K. P.; LIRA JUNIOR, M. A.; LOGES, V.; CASTRO, M. F. A. *Heliconia* characteristics for landscape use. **Acta Horticulturae**, v. 953, p. 293-298, 2012. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.953.40>

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. **Os Reinos dos Fungos**. 2 ed. Santa Cruz do Sul: Edunise, 491 p., 2002.

RÉBLOVÁ, M.; GAMS, W.; SEIFERT, K. A. Monilochaetes and allied genera of the *Glomerellales*, and a reconsideration of families in the Microascales. **Studies in Mycology**, v. 68, p. 163-191, 2011. <https://doi.org/10.3114%2Fsim.2011.68.07>

SANTOS, J. S. C.; GRZEBIELUCKAS, C.; SOCOLOSKI, A.; SILVA, C. A.; SILVA, B. B. C. Viabilidade econômica da produção de flores tropicais no estado de Mato Grosso: Um estudo com agricultor familiar. **Custos e @gronegocio**, v. 16, Ed. Especial, 2020.

SARDINHA, D. H. S.; RODRIGUES, A. A. C.; DINIZ, N. B.; LEMOS, R. N. S.; SILVA, G. S. Fungos e nematoides fitopatogênicos associados ao cultivo de flores tropicais em São Luís-MA. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 2, p. 159-162, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052012000200010>

SHARMA, G.; PINNAKA, A. K.; SHENOY, B. D. ITS-based diversity of *Colletotrichum* from India. **Current Research in Environmental & Applied Mycology**, v. 3, n. 2, p. 194-220, 2013.

SHARMA, G.; SHENOY, B. D. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 47, n. 10, p. 1179-1194, 2013. <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.833749>

SHEAHAN, M.; BARRETT, C. B.; GOLDVALE, C. Human health and pesticide use in Sub-Saharan Africa. **Agricultural Economics**, v. 48, n. 51, p. 27-41, 2017. <https://doi.org/10.1111/agec.12384>.

SHERIFF, C.; WHELAN, M. J.; ARNOLD, G. M.; LAFAY, J. F.; BRYGOO, Y.; BAILEY, J. A. Ribosomal DNA sequence analysis reveals new species groupings in the genus *Colletotrichum*. **Experimental Mycology**, v. 18, n. 2, p. 121- 138, 1994.

SILVA, C. G.; NASCIMENTO, T. O.; SILVA, P. C.; DALBOSCO, E. Z.; HIEGA, K. M. R.; SILVA, C. A.; KRAUSE, W. Helicônia: a beleza da flora Mato-grossense. **Revista MT Horticultura**, v. 1, n. 1, p. 024-026, 2015b.

SILVA, C. G.; HIEGA, K. M. R.; DALBOSCO, E. Z.; SILVA, C. A.; ARAÚJO, D. V. Fitossanidade em plantas tropicais no estado de Mato Grosso. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 11 n. 22, p. 2015a. http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_159

SILVA, J. R. A.; CHAVES, T. P.; SILVA, A. R. G.; BARBOSA, L. F.; COSTA, J. O.; SOBRINHO, R. R.; TEIXEIRA, R. R. O.; SILVA, S. J. C.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 4, p. 315-319, 2017. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0151-7>

SIMÃO, D. G.; SCATENA, V. L. Morphological aspects of the propagation in *Heliconia velloziana* L. Emygd. (Zingiberales: Heliconiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 46, n. 1, p. 65-72, 2003.

SIMÃO, D. G.; SCATENA, V. L.; BOUMAN, F. Develop mental anatomy and morphology of the ovule and seed of *Heliconia* (Heliconiaceae, Zingiberales). **Plant Biology**, Stuttgart, v. 8, n. 1, p. 143-154, 2006. <https://doi.org/10.1055/s-2005-872815>

SOBRINHO, C. C. M.; BEZERRA, J. L.; SILVEIRA, A. J.; BITTENCOURT, M. A. L. Fitopatógenos associados às doenças de *Heliconia* spp., em cultivos comerciais no Litoral Sul da Bahia. **Agrotrópica**, v. 27, n. 1, p. 25 - 32. 2015. <http://dx.doi.org/10.21757/0103-3816.2015v27n1p25-32>

SOLOGUREN, F. J.; JULIATTI, F. C. Doenças fúngicas em plantas ornamentais em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, p. 45-52, 2007.

SOSOF, V.; ALVARADO, G. J. R.; SÁNCHEZ, C. D. Y MARTÍN, S. Estudio de La variabilidad de cultivares nativos de flores del género *Heliconia* (Heliconiaceae) provenientes de la región Suroccidental de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2006.

SOUZA, R. R.; BECKMANN-CAVALCANTE, M. Z.; SILVA, A. A.; SILVA, E. M.; BRITO, L. P. S.; SILVA, A. O. Yield and quality of inflorescences of ‘Golden Torch’ heliconia in different shaded environments. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e**

Ambiental, v. 20, n. 2, p. 128-132, 2016. <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n2p128-132>

SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A. E.; MILLS, P. R. DNA sequence variation and interrelation ship among *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 41, n. 4, p. 265-281, 1992. [https://doi.org/10.1016/0885-5765\(92\)90026-R](https://doi.org/10.1016/0885-5765(92)90026-R)

SRINIVAS, M.; KUMAR, R.; JANAKIRAM, T. Evaluation of *Heliconia* genotypes for vegetative and flowering traits. **Indian Journal of Genetics**, v. 72, n. 3, p. 397-399, 2012.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes**: fungi imperfecti with pycnidia, acervular and stromata. Kew: Commonw Mycological Institute, 696p., 1980.

SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.) *Colletotrichum – Biology, Pathology and Control*. Wallingford: CAB International, p. 1-26, 1992.

TAKESHITA, V.; OLIVEIRA, F. F.; WITT, F. A. P.; RIBEIRO, L. F. C. Efeito inibitório de extratos vegetais da Família *Allioideae* sobre *Guignardia citricarpa* - agente causal da mancha preta em *citrus*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 10, n. 19, p. 906-919, 2014.

TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, hostrange and conservation status. **Fungal Diversity**, v. 110, p. 109–198, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00491-9>

TALHINHAS, P.; SREENIVASAPRASAD, S.; NEVES-MARTINS, J.; OLIVEIRA, H. Genetic and morphological characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose of lupins. **Phytopathology**, v. 92, n. 9, p. 986-996, 2002. <https://doi.org/10.1094/phyto.2002.92.9.986>

THE PLANT LIST. **A working list of all plant species**. Version 1.1. 2013. Published on the Internet. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso: Fevereiro 2023.

TODE, H. J. *Fungi Mecklenbergensis Selecti*, v. 1, p. 1-64, 1790.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE. Natural Resources Conservation Service. **Classification for Kingdom Plantae Down to Genus *Heliconia* L.** Disponível em: <<https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=HELIC2> >. Acesso em: Junho de 2022.

VIEIRA, W. A. S.; BEZERRA, P. A.; SILVA, A. C.; VELOSO, J. S.; CÂMARA, M. P. S.; V. P. DOYLEB. Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 143, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106694>

VON ARX, J. A. **Revision der zu *Gloeosporium* gestellten Pilze**. Amsterdam: N. V. Noord-Holland sche Uitgevers Maatschappij, 157 p., 1957.

WACULICZ-ANDRADE, C. E.; SAVI, D. C.; BINI, A. P.; ADAMOSKI, D.; GOULIN, E. H.; SILVAJR, G. J.; MASSOLAJR, N. S.; TERASAWA, L. G.; KAVA, V. *Colletotrichum gloeosporioides* sensu stricto: na endophytic species or citrus pathogen in Brazil. **Australasian Plant Pathology**, v. 46, n. 2, p. 191-203, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0476-1>

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 115-180, 2012. <https://doi.org/10.3114/sim0011>

WORLD FLORA ONLINE. **An online Flora of All Known Plants**. A Project of the World Flora Online Consortium. Published on the Internet. Disponível em: <<http://www.worldfloraonline.org/>>. Acesso: Fevereiro de 2023.

ZHANG, N, CASTLEBURY, L. A.; MILLER, A. N.; HUHDORF, S. M. An overview of the systematics of the Sordariomycetes based on four-gene phylogeny. **Mycologia**, v. 98, n. 6, p. 1076-1087, 2006. <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832635>

4. IDENTIFICAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM HELICÔNIAS

RESUMO

Na cultura das helicônias, as doenças ocasionam perdas significativas na produção. A antracnose, por exemplo, é causada por fungos do gênero *Colletotrichum*, responsável por provocar prejuízos em função do difícil controle, pois os sintomas deixam as hastes florais impróprias para a comercialização. O gênero *Colletotrichum*, considerado como importante patógeno de plantas, possui ampla diversidade de espécies, sendo responsáveis por causar uma variedade de doenças em diversas culturas econômicas, dificultando a diagnose vegetal adequada desta doença. Nesse contexto, o conhecimento de quais espécies de *Colletotrichum* estão ocorrendo em helicônias são necessários. Contudo, estudos de identificação deste gênero em helicônias ainda são escassos. O objetivo deste trabalho foi identificar espécies do gênero *Colletotrichum* obtidas a partir de diferentes espécies de Helicônia: *Heliconia* sp., *H. bihai*, *H. rauliniana*, *H. rostrata* e *H. psittacorum* mediante o emprego de ferramentas moleculares e características morfoculturais. Dessa maneira, Isolados fúngicos foram obtidos de plantas de helicônias com sintomas de antracnose em plantios comerciais nos estados de Alagoas, Ceará e Pernambuco. Foram obtidos trinta e dois isolados a partir de flores, folhas, pecíolos e brácteas exibindo sintomas típicos de antracnose. Foi realizado o teste de patogenicidade, a análise multi-locus e estudos referentes às características morfológicas e culturais das distintas espécies de *Colletotrichum* identificadas. No teste de patogenicidade, folhas destacadas e brácteas com ferimento, inoculadas com espécies de *Colletotrichum* apresentaram manchas necróticas a partir de 24 horas após a retirada de câmara úmida, 72 horas após inoculação. Em relação à análise multi-locus das sequências dos genes *GAPDH*, *CAL*, *TUB2* e região ITS foi realizada com dezessete isolados de *Colletotrichum*, sendo comparadas as sequências com os acessos do banco de dados do GenBank usando o algoritmo BLASTn, juntamente com a construção das árvores de Inferência Bayesiana, foi possível agrupar os isolados em quatro complexos. Os isolados foram agrupados nos complexos *C. boninense*, *C. gloeosporioides*, *C. magnum* e *C. gigasporum*. Este é o primeiro relato das espécies *C. alienum*, *C. brevisporum*, *C. gigasporum*, *C. karstii*, *C. theobromicola* e *C. tropicale* no gênero *Heliconia*.

Palavras-chave: Filogenia Multi-locus, Heliconiaceae.

ABSTRACT

In the culture of heliconias, diseases cause significant losses in production. Anthracnose, for example, is caused by fungi of the genus *Colletotrichum*, responsible for causing damage due to the difficult control, as the symptoms leave the flower stems unfit for commercialization. The genus *Colletotrichum*, considered an important plant pathogen, has a wide diversity of species, being responsible for causing a variety of diseases in different economic cultures, making it difficult to properly diagnose this disease. In this context, knowledge of which *Colletotrichum* species are occurring in heliconias is necessary. However, identification studies of this genus in heliconias are still scarce. The objective of this work was to identify species of the genus *Colletotrichum* obtained from different species of Heliconia: *Heliconia* sp., *H. bihai*, *H. rauliniana*, *H. rostrata* and *H. psittacorum* using molecular tools and morphocultural characteristics. In this way, fungal isolates were obtained from heliconia plants with symptoms of anthracnose in commercial plantations in the states of Alagoas, Ceará and Pernambuco. Thirty-two isolates were obtained from flowers, leaves, petioles and bracts showing typical symptoms of anthracnose. The pathogenicity test, the multi-locus analysis and studies related to the morphological and cultural characteristics of the different species of *Colletotrichum* identified were carried out. In the pathogenicity test, detached leaves and injured bracts inoculated with *Colletotrichum* species showed necrotic spots from 24 hours after removal from the humid chamber, 72 hours after inoculation. In relation to the multilocus analysis of the sequences of the genes *GAPDH*, *CAL*, *TUB2* and ITS region, it was carried out with seventeen isolates of *Colletotrichum*, comparing the sequences with the accessions of the GenBank database using the BLASTn algorithm, together with the construction of the Bayesian Inference trees, it was possible to group the isolates into four complexes. The isolates were grouped into *C. boninense*, *C. gloeosporioides*, *C. magnum* and *C. gigasporum* complexes. This is the first report of the species *C. alienum*, *C. brevisporum*, *C. gigasporum*, *C. karstii*, *C. theobromicola* and *C. tropicale* in the genus *Heliconia*.

Keywords: Multi-locus phylogeny, Heliconiaceae.

4.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Heliconia* inserido na família Heliconiaceae, possuem plantas herbáceas, perenes com brácteas coloridas e brilhantes (KRESS, 1990; USDA, 2022). As Helicônias se adaptam tanto ao uso em vasos como compondo arranjos florais, sendo aplicadas como flores de corte e no paisagismo (PINHEIRO et al., 2012). No Brasil, ocorrem de forma natural em todos os domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (BRAGA, 2015). Na região Nordeste do país é uma das plantas ornamentais mais cultivadas, em virtude das condições edafoclimáticas serem favoráveis para o cultivo com qualidade, os estados de Alagoas, Ceará e Pernambuco os principais produtores e exportadores dessa região (AKI; PEDROSA, 2002; JUNQUEIRA; PEETZ, 2007; JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

Entre os patógenos os fungos são considerados os principais agentes associados às doenças, devido apresentar ampla distribuição, grande número de espécies fitopatogênicas e elevada variedade de hospedeiros suscetíveis, (DEAN et al., 2012). Entre as doenças, a antracnose ocasiona danos significativos, sendo um problema importante enfrentado por produtores de helicônias (SARDINHA et al., 2012; SOBRINHO et al., 2015). Em condições elevadas de temperatura e umidade deixam o ambiente favorável para o desenvolvimento da antracnose, responsável por provocar grandes perdas em função da redução na qualidade e aumento no custo de produção (GHINI et al. 2011). A ocorrência da antracnose em distintas espécies de helicônias foi relatada em vários estados no Brasil, ocasionando prejuízos diretos, pela redução do valor das flores para o comércio, em consequência de os sintomas deixarem as hastes florais impróprias para a comercialização, e indiretos, através do alto custo no manejo da cultura (SOLOGUREN; JULIATTI 2007; SARDINHA et al., 2012; SOBRINHO et al., 2015).

As espécies do gênero *Colletotrichum*, são consideradas como importante patógenos de plantas, deste modo são responsáveis por causar uma variedade de doenças, incluindo a antracnose em diversas culturas econômicas, (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; DOYLE et al., 2013; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022). O gênero foi eleito mundialmente o oitavo grupo mais importante de fungos patogênicos, causando doenças em plantas (DEAN et al. 2012). Atualmente o gênero *Colletotrichum* abrange 280 espécies aceitas com dados moleculares, dentre elas, 15 são espécies isoladas (*singleton*) e as outras 265 espécies estão agrupadas em um dos 16 complexos reconhecidos (LIU et al., 2022). Estudos realizados por meio de caracterização

morfológica (SOLOGUREM e JULIATTI 2007; LÓPEZ-VÁSQUEZ et al., 2013; SILVA et al., 2015a) e caracterização molecular utilizando a região ITS-DNA (BARGUIL et al., 2009; BARGUIL et al., 2011; GURGEL et al., 2014) relataram que somente a espécie *C. gloeosporioides* está associada à antracnose em helicônias no mundo.

Atualmente a identificação de espécies do gênero *Colletotrichum* está baseada em uma abordagem polifásica que compreende o emprego de análises filogenéticas multi-locus associadas a características morfoculturais e patogênicas (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; SHARMA et al., 2013; VIEIRA et al., 2020). Essa nova abordagem tem contribuído de forma significativa para compreensão do gênero, proporcionando uma identificação mais precisa das espécies, solucionando incertezas provocadas pelos antigos critérios de classificação e ampliando o registro de novas espécies em diferentes hospedeiros (CANNON et al., 2012; HOU et al., 2016; DAMM et al., 2019; VIEIRA et al., 2020; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022). Dessa forma, é necessário a identificação precisa das espécies de *Colletotrichum* no gênero *Heliconia*, para compreensão sobre a etiologia da doença e estabelecimento de manejo apropriado (HUANG et al., 2013; LIMA et al., 2013). Nesse contexto, o objetivo da pesquisa foi identificar espécies do gênero *Colletotrichum* através da caracterização molecular e morfocultural associadas à doença antracnose obtida a partir de plantas da família Heliconiaceae em diferentes espécies nos plantios comerciais da região Nordeste do Brasil, por ser uma das doenças mais importantes para a cultura afetando folhas e toda a inflorescência.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Obtenção dos isolados de *Colletotrichum*

Flores, folhas, pecíolos e brácteas do gênero *Helicônia* exibindo sintomas típicos de antracnose foram coletadas em plantações comerciais nos Estados de Alagoas, Ceará e Pernambuco (Tabela 2). Os órgãos vegetais foram lavados em água corrente e secos. Foram retirados pequenos fragmentos da região de transição entre o tecido doente e o sadio. Esses tecidos foram desinfestados superficialmente em álcool a 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% por 1 minuto, lavados duas vezes em água destilada esterilizada (ADE) e secos em papel filtro esterilizado. Em seguida, foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) com adição do antibiótico Amoxicilina. As placas foram mantidas em câmara BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) sob temperatura de 25°C até o crescimento micelial, onde discos das bordas das colônias foram transferidos para novas placas de Petri contendo meio BDA. Os isolados fúngicos foram previamente identificados após a esporulação como pertencentes ao gênero *Colletotrichum* (SUTTON, 1980; SUTTON, 1992; WEIR et al., 2012).

Para obtenção das culturas puras, isolados monospóricos foram obtidos a partir de diluição seriada de uma solução de esporos, até 10^{-5} da concentração inicial. Uma alíquota de 20 μ L foi uniformemente distribuída em placas de Petri contendo meio AA (ágar água) usando uma alça de Drigalski. Após 24 horas, o esporo germinado de cada isolado foi transferido para novas placas de Petri contendo meio BDA para preservação e extração de DNA. Os isolados monospóricos foram preservados pelo método de Castellani (1967) e em tubos de eppendorf.

4.2.2. Teste de patogenicidade

Folhas e brácteas assintomáticas do gênero *Helicônia* foram lavadas em água corrente, desinfestadas superficialmente em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% por 3 minutos, lavadas 3 vezes em ADE e secos com papel estéril. Os métodos de inoculação foram com e sem ferimento. O inóculo consistiu de uma gota de 30 μ L de suspensão de esporos com concentração de 10^6 conídios/mL⁻¹ (ALFENAS et al. 2007) depositadas sobre a superfície de cada folha e bráctea. A testemunha foi composta apenas por ADE. As folhas e brácteas foram acondicionadas em becker de vidro contendo carbonato de cálcio (CaCO₃) a 8% dissolvido em ADE, as folhas e brácteas permaneceram em condições de câmara úmida por 48 horas.

Após 4 dias de inoculação, as lesões foram avaliadas em duas direções diametricamente opostas (cm) com auxílio de um paquímetro digital. O patógeno foi reisolado para comprovar a patogenicidade das espécies conforme os postulados de Koch e verificar as características moleculares e morfoculturais.

4.2.3 Caracterização molecular

O micélio para extração do DNA dos isolados foi obtido a partir da massa micelial cultivada em meio Sacarose-Extrato de levedura-Asparagina (ZAUZA et al. 2007) por 5 dias, sob temperatura de 25 ± 1 °C, sem agitação e, fotoperíodo de 12 horas, posteriormente lavado em ADE. O DNA foi extraído seguindo o protocolo de Doyle e Doyle (1987). Posteriormente, sequências parciais do gene do gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*) foram amplificadas usando os primers GDF/GDR (GUEBER et al., 2003) para uma identificação preliminar dos isolados e avaliação da diversidade haplotípica das espécies. Posteriormente, representantes de cada espécie, baseado nos haplótipos, foram amplificados com as sequências parciais dos genes β -tubulina (*TUB2*) usando os primers T1/Bt2b (O'DONNELL; CIGELNIK 1997; GLASS; DONALDSON 1995), mating type locus MAT1-2-1 (APN2/MAT-IGS) com os primers CgDL_F6/DgMAT1_F2 (ROJAS et al. 2010), Calmodulina (*CAL*) com os primers CL1C e CL2C e região rDNA Internal transcribed spacer (ITS) com ITS1/ITS4 (WHITE et al. 1990) para garantir maior confiabilidade na identificação e posicionamento taxonômico definitivo das espécies do gênero *Colletotrichum*.

As amplificações de PCR para o gene *GAPDH* foram realizadas em um Mix de 30 μ L, que continha tampão 10X, MgCl₂ 50 mM, DNTP's 10 mM, 10 μ M de cada oligonucleotídeo, 1U de Taq DNA Polimerase, 1 μ L de DNA diluído (1:20) e 30 μ L de água Milli-Q autoclavada. As condições de termociclagem para amplificação do gene *GAPDH* consistiram de uma desnaturação inicial de 4 min a 94°C, seguido por 35 ciclos de 45s a 94°C, 45s a 60°C e 1 min a 72°C, com uma extensão final de 7 min a 72°C. Para os demais genes, as condições de termociclagem foram semelhantes às descritas anteriormente com alterações nas temperaturas de anelamento, estabelecidas para cada par de primer utilizado (WEIR et al., 2012; DAMM et al., 2019).

Os produtos de PCR dos genes *GAPDH*, *TUB2*, *CAL* e região ITS foram enviados para purificação e sequenciamento nos dois sentidos com os mesmos primers utilizados na amplificação. Árvores para análise de Inferência Bayesiana com as sequências parciais do genes *GAPDH*, *TUB2*, *CAL* e região ITS foram construídas, empregando o método da cadeia

de Markov Monte Carlo, no web portal CIPRES (MILLER et al., 2010) usando MrBayes v. 3.2.3 (RONQUIST et al., 2012). O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado usando MrModeltest 2.3 (POSADA; BUCKLEY, 2004) de acordo com o Akaike Information Criterion. Sequências parciais obtidas foram inicialmente analisadas com o algoritmo BLASTn (ALTSCHUL et al., 1990) e o banco de dados de nucleotídeos não-redundante GenBank para determinar as espécies fúngicas com as quais elas compartilharam maior identidade de sequência.

4.2.4. Estudos morfoculturais das espécies de *Colletotrichum*

Para caracterização cultural das espécies, um disco de meio BDA contendo o micélio foi retirado da borda da colônia cultivada por sete dias, estes foram transferidos individualmente para o centro de novas placas de Petri contendo 20 mL de meio BDA sintético. As placas foram incubadas em BOD sob temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas e aos sete dias foram observados à coloração e o aspecto das colônias. O diâmetro das colônias (cm) foi avaliado diariamente tomado no reverso das placas, através da mensuração, em dois sentidos, dos diâmetros perpendiculares, com o auxílio de um paquímetro digital. Os resultados foram submetidos ao cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), de acordo com a fórmula (1). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada isolado, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri.

$$IVCM = \sum \frac{\text{Diâmetro médio atual} - \text{Diâmetro médio anterior}}{\text{Número de dias após a inoculação}} \quad (1)$$

Para caracterização morfológica de espécies de *Colletotrichum* foram avaliados o tamanho e forma de 50 conídios e 50 apressórios escolhidos aleatoriamente, provenientes das estruturas do patógeno crescidos em meio BDA por 7 dias. Para a visualização dos esporos foram utilizadas lâminas de vidro, onde foi depositada uma gota (40 µL) de ADE juntamente com os conídios e observadas em microscópio óptico.

A formação de apressórios foi observada, por meio da técnica da microcultura modificada, utilizando uma gota de suspensão de esporos depositada sobre uma lâmina de vidro estéril acondicionada em placa de Petri forrada com papel filtro estéril umedecido com ADE, de modo a manter o ambiente úmido e permitir a germinação dos conídios. Após 24 a 48 horas, as imagens dos apressórios foram capturadas. Para a mensuração de comprimento e largura dos apressórios, foi considerado como comprimento, a distância entre o septo existente entre o apressório e o tubo germinativo e a extremidade mais distante do mesmo. A

largura foi mensurada em sentido perpendicular ao considerado para o comprimento (Figura 1) (SUSSEL, 2005).

As imagens dos conídios e apressórios foram obtidas através da captura por câmera digital (Olympus IX2-SLP) acoplada ao microscópio óptico com aumento de 400x, projetada em monitor de computador, através do software Cellsenses Standard (SAMSUNG SDC-415®). As mensurações de comprimento e largura dos conídios e apressórios foram obtidas através do software BELView (Versão 6.2.2.1) (Figura 1).

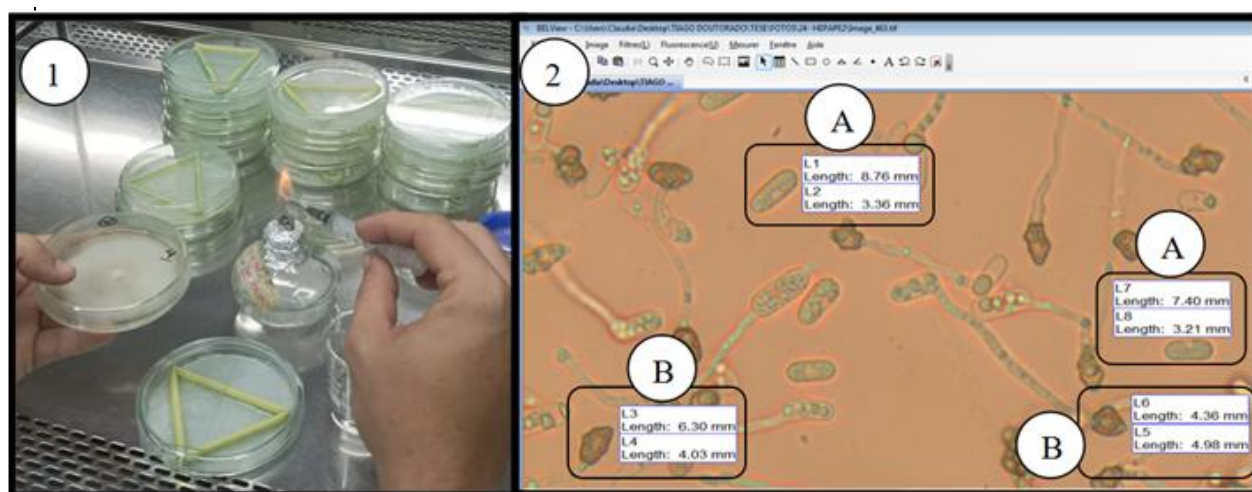


Figura 1. (1) Lâmina de vidro estéril acondicionada em placa de Petri forrada com papel filtro estéril umedecido com ADE; (2) Mensurações de imagens dos conídios (A) e apressórios (B) obtidas através do software BELView (Versão 6.2.2.1).

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Obtenção dos isolados

Um total de trinta e dois isolados de *Colletotrichum* foram obtidos a partir de flores, folhas, pecíolos e brácteas do gênero *Heliconia* das espécies *Heliconia* sp.; *H. bihai*, *H. rauliniana*, *H. rostrata* e *H. psittacorum* exibindo sintomas típicos de antracnose coletadas em plantações comerciais nos Estados de Alagoas, Ceará e Pernambuco, Nordeste do Brasil (Tabela 2).

Tabela 1. Isolados de *Colletotrichum* obtidos de diferentes espécies e partes vegetais de *Helicônias* e distintos locais de coleta.

ISOLADO	PARTE DA PLANTA	ESPÉCIE DE HELICÔNIA	LOCAL DE COLETA
1- HEGU11CE	Folha	<i>Heliconia</i> sp.	Guaramiranga-CE
2- HEGU14CE	Folha	<i>Heliconia</i> sp.	Guaramiranga-CE
3- HEP A7CE	Folha	<i>Heliconia</i> sp.	Pacoti-CE
4- HEGU13CE	Folha	<i>Heliconia</i> sp.	Guaramiranga-CE
5- ALHE1	Bráctea	<i>Heliconia bihai</i>	Maribondo-AL
6- ALHE3	Bráctea	<i>Heliconia bihai</i>	Maribondo-AL
7- ALHE4	Bráctea	<i>Heliconia bihai</i>	Maribondo-AL
8- ALHE11	Bráctea	<i>Heliconia bihai</i>	Maribondo-AL
9- HECECA1	Bráctea	<i>Heliconia rauliniana</i>	Rio Largo-AL
10- HECECA4	Bráctea	<i>Heliconia rauliniana</i>	Rio Largo-AL
11- HECECA5	Bráctea	<i>Heliconia rauliniana</i>	Rio Largo-AL
12- HEV1AL1	Bráctea	<i>Heliconia rostrata</i>	Maribondo-AL
13- HEV2AL3	Bráctea	<i>Heliconia psittacorum</i>	Maribondo-AL
14- HEV1AL4	Bráctea	<i>Heliconia rostrata</i>	Maribondo-AL
15- HEV1AL7	Bráctea	<i>Heliconia rostrata</i>	Maribondo-AL
16- HEIP-PE6	Bráctea	<i>Heliconia psittacorum</i>	Ipojuca-PE
17- HEIP-PE8	Bráctea	<i>Heliconia psittacorum</i>	Ipojuca-PE
18- HEIP-PE9	Bráctea	<i>Heliconia psittacorum</i>	Ipojuca-PE
19- HEIP-PE10	Bráctea	<i>Heliconia psittacorum</i>	Ipojuca-PE
20- HEIP-PE13	Folha	<i>Heliconia psittacorum</i>	Ipojuca-PE
21- HEIP-PE16	Bráctea	<i>Heliconia psittacorum</i>	Ipojuca-PE
22- HEIP-PE18	Flor	<i>Heliconia psittacorum</i>	Ipojuca-PE
23- HEP A-PE2	Folha	<i>Heliconia rostrata</i>	Paulista-PE
24- HEP A-PE2*	Pecíolo (Folha)	<i>Heliconia rostrata</i>	Paulista-PE
25- HEP A-PE4	Folha	<i>Heliconia rostrata</i>	Paulista-PE
26- HEP A-PE7	Folha	<i>Heliconia rostrata</i>	Paulista-PE
27- HEP A-PE10	Folha	<i>Heliconia rostrata</i>	Paulista-PE
28- HEP A-PE13(1)	Folha	<i>Heliconia rostrata</i>	Paulista-PE
29- HEP A-PE13(2)	Folha	<i>Heliconia rostrata</i>	Paulista-PE
30- HEIP-PE4	Folha	<i>Heliconia rostrata</i>	Ipojuca-PE
31- HEGU10CE	Folha	<i>Heliconia</i> sp.	Guaramiranga-CE
32- HEP A5CE	Bráctea	<i>Heliconia</i> sp.	Pacoti-CE

4.3.2. Teste de Patogenicidade

Folhas destacadas e brácteas com ferimento, inoculadas com espécies de *Colletotrichum* apresentaram manchas necróticas a partir de 24 horas após a retirada de câmara úmida, 72 horas após inoculação. Nas folhas destacadas o isolado 13-HEV2AL3 induziu a maior lesão (10,15 mm), enquanto o isolado 27-HEPA-PE10 apresentou a menor lesão (7,5mm). Em relação às brácteas, o isolado 2-HEGU14-CE induziu a maior lesão (1,1 mm), enquanto o isolado 28-HEPA-PE13 apresentou a menor lesão (0,78 mm). Tanto as folhas destacadas como as brácteas ocorreram diferenças na severidade dos sintomas para as demais espécies (Tabela 3).

Todos os isolados de *Colletotrichum* do presente estudo foram capazes de desenvolver sintomas na inoculação com ferimentos, induzindo lesões necróticas deprimidas, encharcadas, marrom-claro a escuro e com tamanhos variáveis em folhas e brácteas. Apresentando sintomas semelhantes aos observados em campo e morfologicamente iguais aos isolados originais, cumprindo assim os Postulados de Koch. Nas testemunhas e nos locais onde foi efetuada a inoculação sem o ferimento não foram observados nenhum sintoma (Figura 6).

Os isolados 13-HEV2AL3; 15-HEV1AL7 e 27-HEPA-PE10 se agruparam no complexo *C. gloeosporioides*; 13-HEV2AL3 e 15-HEV1AL7 foram obtidos de brácteas e 27-HEPA-PE10 de folhas na cultura da helicônia coletados no estado de Alagoas, na cidade Maribondo. Os isolados 13-HEV2AL3, 15-HEV1AL7 e 27-HEPA-PE10 obtiveram nas folhas destacadas 10,15 9,16 e 7,5mm e 0,81, 0,88 e 0,85mm nas brácteas referente ao diâmetro das lesões nos locais com ferimentos, apresentaram-se como primeiro segundo e sexto nas folhas e para as brácteas foram o quinto, terceiro e quarto isolados mais agressivos no teste de patogenicidade, respectivamente, em comparação aos isolados dos outros complexos.

O complexo *C. boninense* foi representado pelo isolado 2-HEGU14CE, proveniente de folha de helicônia, coletada no município de Guaramiranga no estado do Ceará. No teste de patogenicidade, o isolado apresentou 8,74 e 1,1mm de diâmetro da lesões nas folhas destacadas e brácteas com ferimento, ficando no terceiro e primeiro isolados mais agressivas em folhas e brácteas, respectivamente no estudo.

Já em relação ao complexo *C. magnum*, foi representado pelo isolado, 28-HEPA-PE13, proveniente de folha de helicônia obtido na cidade de Paulista no estado de Pernambuco. O isolado apresentou 7,78 e 0,78 mm de diâmetro das lesões, ficando em quinto e sexto na posição nas folhas destacadas e brácteas nos locais com ferimento.

O isolado 22-HEIP-PE18 obtido de flores de helicônia no município de Ipojuca no estado de Pernambuco apresentou 8,29 e 1,0mm no diâmetro das lesões, ficando no quarto e segundo na posição nas folhas destacadas e brácteas com ferimentos respectivamente, em comparação aos isolados dos outros complexos.

Tabela 2. Dados do teste de patogenicidade em folhas destacadas e brácteas dos isolados de *Colletotrichum*.

Isolados	Diâmetro das lesões (mm)	
	Folhas destacadas	Brácteas
TESTEMUNHA	0,00	0,00
2-HEGU14CE	8,74	1,1
13-HEV2AL3	10,15	0,81
15-HEV1AL7	9,16	0,88
22-HEIP-PE18	8,29	1,0
27-HEPA-PE10	7,5	0,85
28-HEPA-PE13	7,78	0,78

Isolados	Sintomas Campo	Teste Patogenicidade	
		Folhas destacadas	Brácteas
2- HEGU14CE			

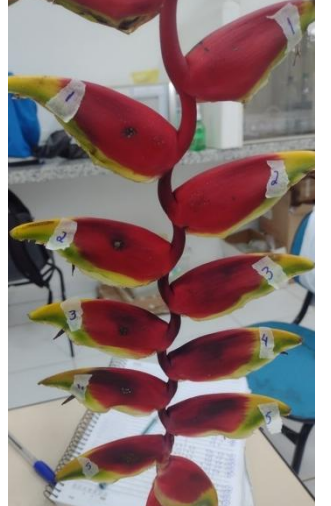
13- HEV2AL3			
15- HEV1AL7			
22-HEIP- PE18			



Figura 2. Sintomas do campo e teste de patogenicidade em folhas destacadas e brácteas dos isolados de *Colletotrichum*.

4.3.3. Caracterização molecular dos isolados de *Colletotrichum*

A análise inicial das sequências parciais do gene *GAPDH* foi realizada com dezessete isolados de *Colletotrichum* provenientes de flores, folhas, pecíolos e brácteas de plantas de *Heliconia* com sintomas típicos de antracnose. Sendo onze isolados obtidos de brácteas, quatro de folhas, um de pecíolo e um de flor. Após a comparação das sequências com os acessos do banco de dados do GenBank usando o algoritmo BLASTn, juntamente com a construção das árvores de Inferência Bayesiana foi possível agrupar dois isolados no complexo *C. boninense*, doze no complexo *C. gloeosporioides*, dois no complexo *C. magnum* e um no complexo *C. gigasporum*.

A filogenia dos isolados do complexo *C. boninense*, incluíram dois isolados 2-HEGU14CE e 4-HEGU13CE que estão em clados bem suportados com a espécie *C. karstii* (Figura 3).

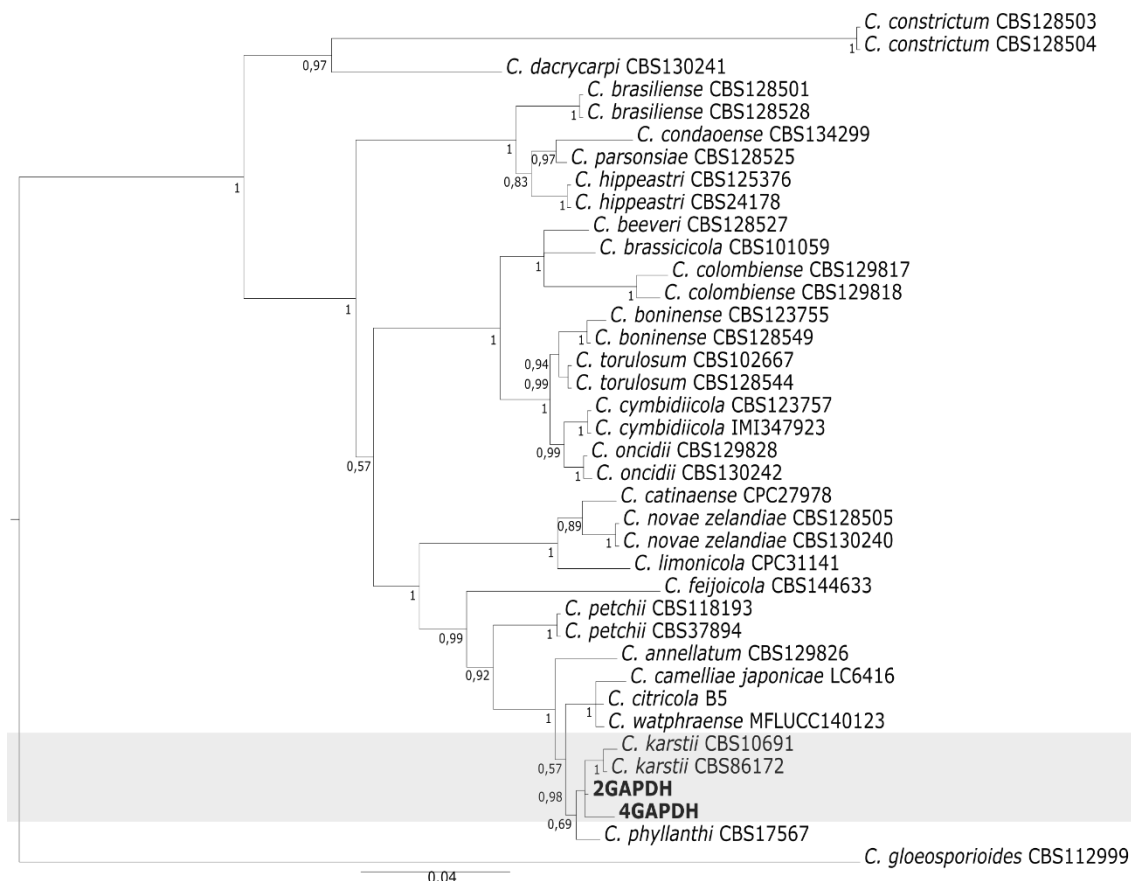


Figura 3. Árvore filogenética concatenada utilizando os genes *GAPDH* e *CAL* inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana para as espécies do complexo *Colletotrichum boninense*. Os valores da probabilidade posterior > 0,04 estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum gloeosporioides* (CBS112999).

No complexo *C. gloeosporioides* foram incluídos três isolados, 13-HEV2AL3 se agrupou em clado bem suportado com a espécie *C. theobromicola*. O isolado 27-HEPA-PE10 se agrupou em clado com várias espécies (*C. alienum*, *C. fructicola*, *C. nupharicola* e *C. hystrix*) ficando mais próximo da espécie *C. fructicola*. O isolado 15-HEV1AL7 se agrupou em clado bem suportado com a espécie tipo *C. tropicale* (CBS 124949) (Figura 4).



Figura 4. Árvore filogenética concatenada utilizando o gene *GAPDH* e a região ITS inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana para as espécies do complexo *Colletotrichum gloeosporioides*. Os valores da probabilidade posterior > 0,03 estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum boninense* (ICMP17904).

Para a filogenia do complexo *C. magnum* foram incluídos dois isolados 24-HEPA-PE2 e 28-HEPA-PE13 que estão em um clado próximo a espécie *C. brevisporum* (Figura 5).

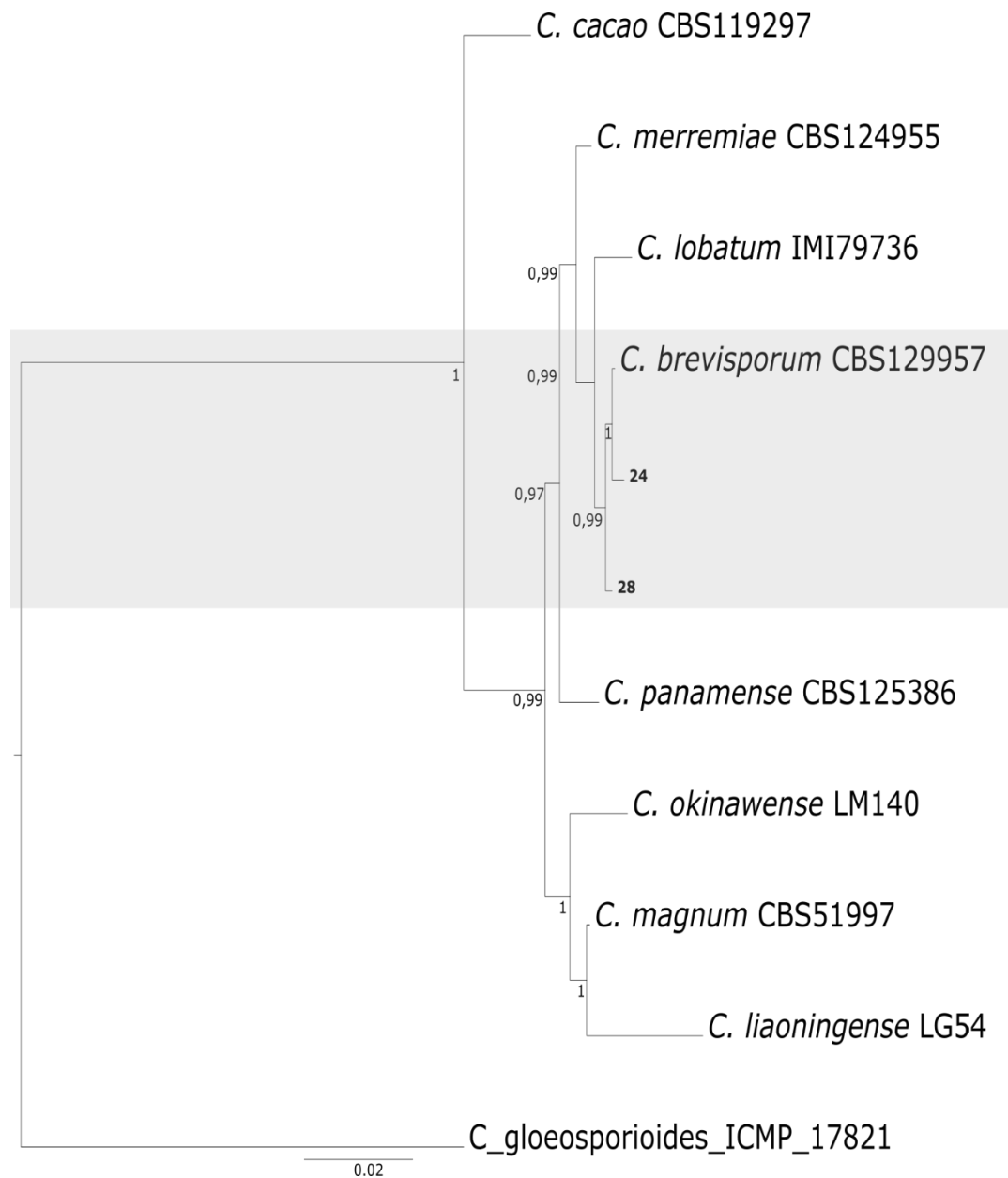


Figura 5. Árvore filogenética concatenada utilizando os genes *GAPDH* e *TUB2* e a região ITS, inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana para as espécies do complexo *Colletotrichum magnum*. Os valores da probabilidade posterior $> 0,03$ estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum gloeosporioides* (ICMP17821).

Já a filogenia do isolado referente ao complexo *C. gigasporum* foi incluído um isolado 22- HEIP-PE18, que está em clado juntamente com a espécie *C. gigasporum* (Figura 6).

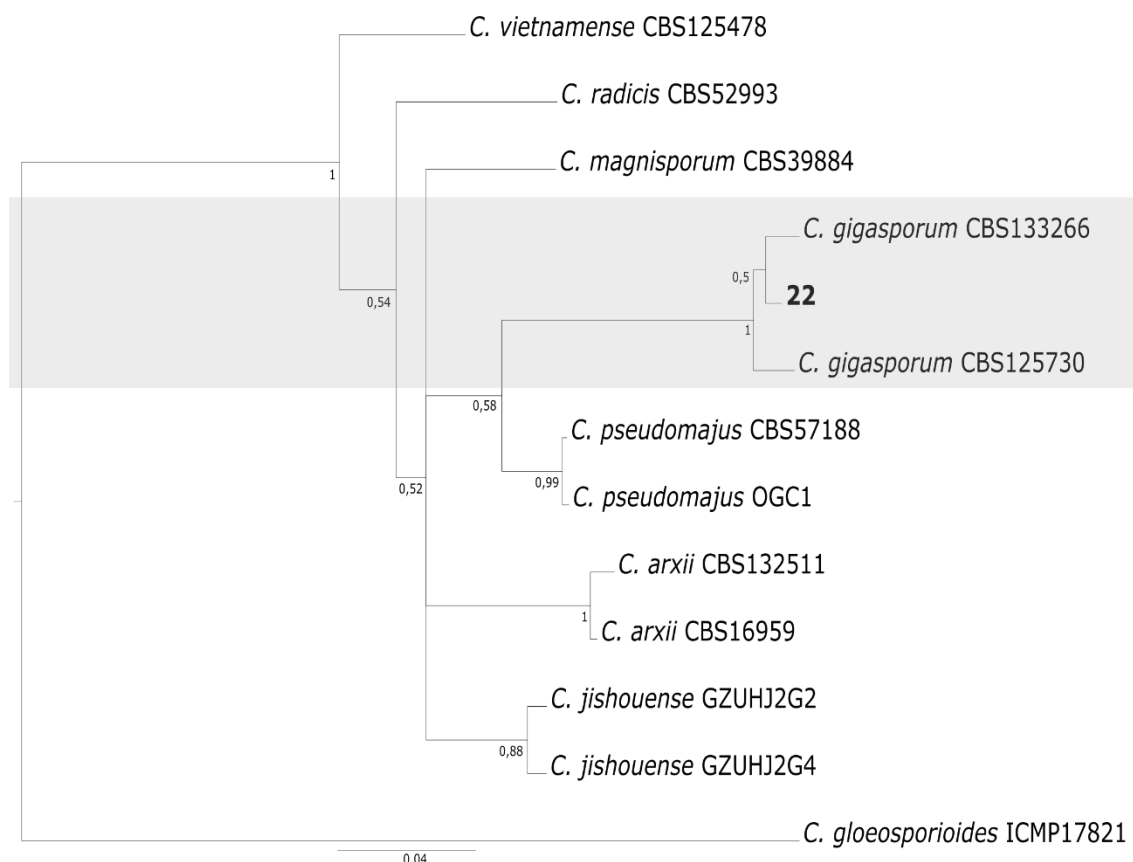


Figura 6. Árvore filogenética concatenada utilizando os genes *GAPDH* e *CAL* inferida a partir da análise de Inferência Bayesiana para as espécies do complexo *Colletotrichum gigasporum*. Os valores da probabilidade posterior $> 0,05$ estão indicados acima dos nós. As culturas ex-tipo são marcadas com um asterisco. Os isolados utilizados neste estudo estão enfatizados em negrito. A árvore está enraizada com *Colletotrichum gloeosporioides* (ICMP17821).

4.3.4. Caracterização Morfocultural

As características morfológicas e culturais avaliadas dos isolados de *Colletotrichum*, como: tamanho e formato de conídios e apressórios, aspectos das colônias e velocidade de crescimento micelial, estão apresentadas na Tabela 4 e Figura 7.

As características culturais das colônias, dos isolados dentro do complexo *C. gloeosporioides*, apresentaram bordas irregulares e regulares, coloração do micélio variando de cinza esverdeado, branco acinzentado e branco alaranjado no centro, de acordo com o aspecto todos foram cotonosos, sem estrias, com e sem setores. A variação da taxa de

crescimento médio das colônias dentro do complexo foi de 9,50; 10,54 e 10,68 mm.dia⁻¹. Os conídios apresentaram-se hialinos, não septados, reto-cilíndricos com pontas aguçadas ou redondas. O comprimento médio dos conídios variou entre 7,21; 7,66 e 9,32 µm e largura média de 2,38; 2,99 e 3,19 µm. Apressórios apresentaram cor predominantemente marrom escuro, com formato ovóide e irregular. O comprimento médio do apressório variou de 4,32; 4,84 e 5,86 µm e a largura média de 3,11; 3,15 e 3,56 µm.

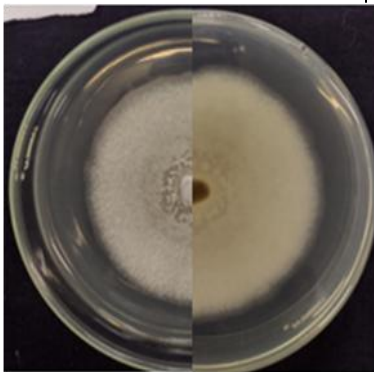
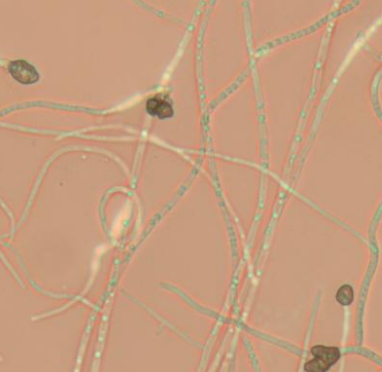
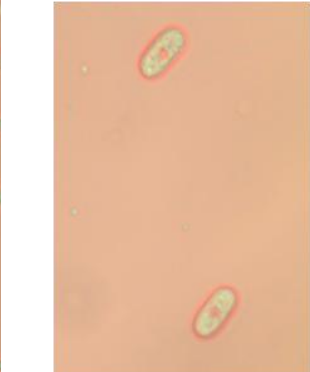
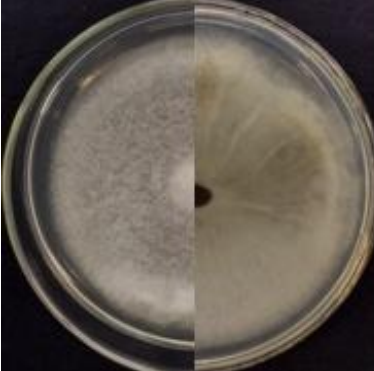
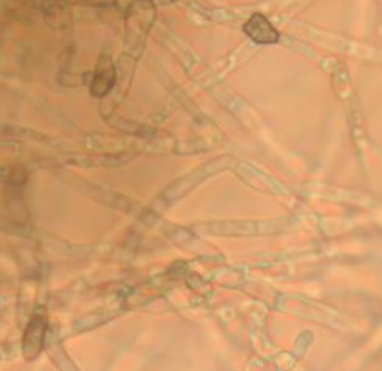
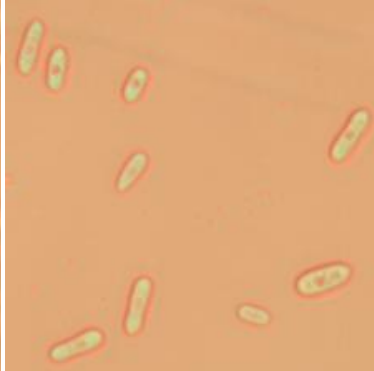
No complexo *C. boninense*, em relação às características culturais da colônia, o isolado apresentou borda irregular e cor da colônia apresentando micélio acinzentado na frente e verso amarelado, sem setor e não cotonoso. A taxa de crescimento foi de 9,64 mm.dia⁻¹. Os conídios apresentaram-se hialinos, não septados, cilíndricos com pontas aguçadas ou redondas. O comprimento médio dos conídios foi 7,84 µm e largura média de 3,84 µm. Apressórios apresentaram cor predominantemente marrom escuro, com formato ovóide e irregular. O comprimento médio do apressório foi 4,96 µm e a largura média de 3,58 µm.

Já o complexo *C. magnum*, em relação às características culturais da colônia, o isolado apresentou borda regular, cor da colônia branca alaranjado no centro na parte superior e branco alaranjado no verso, produzindo muitos esporos, não apresentou setor e apresentando aspecto cotonoso. A taxa de crescimento médio foi de 9,93 mm.dia⁻¹. Os conídios apresentaram-se hialinos, não septados, cilíndricos com pontas aguçadas ou redondas. O comprimento médio dos conídios foi 9,51 µm e largura média de 3,42 µm. Apressórios apresentaram cor predominantemente marrom escuro, com formato ovóide e irregular. O comprimento médio do apressório foi de 4,80 µm e a largura média de 3,89 µm.

Em relação ao complexo *C. gigasporum*, às características culturais das colônias dos isolados apresentou borda regular, cor da colônia cinza esverdeado com borda clara, pouco cotonoso. A taxa de crescimento médio dentro do complexo foi de 10,04 mm.dia⁻¹. Os conídios apresentaram-se hialinos, não septados, cilíndricos com pontas aguçadas. O comprimento médio dos conídios foi de 13,35 µm e largura média de 4,56 µm. Apressórios apresentaram cor predominantemente marrom escuro, com formato ovóide e irregular. O comprimento médio do apressório foi de 7,89 µm e a largura média de 5,03 µm.

Tabela 3. Dados morfológicos e culturais dos isolados de *Colletotrichum*.

Isolados	Conídios (µm)		Formato	Apressórios (µm)		Crescimento Micelial (mm/dia)	Colônias
	Comp.	Lar.		Comp.	Larg.		
2- HEGU14CE	7,84	3,84	Cilíndrico	4,96	3,58	9,64	Borda irregular, micélio acinzentado frente, amarelado verso, sem setores, não cottonoso
13- HEV2AL3	7,21	2,99	Cilíndrico	5,86	3,11	10,54	Borda irregular, micélio cinza esverdeado, com setores, cottonoso
15- HEV1AL7	7,66	3,19	Cilíndrico	4,32	3,56	9,50	Borda irregular, micélio branco acinzentado, sem setores, cottonoso
22- HEIP-PE18	13,35	4,56	Cilíndrico	7,89	5,03	10,04	Borda regular, micélio cinza esverdeado com borda clara, pouco cottonoso
27- HEPA-PE10	9,32	2,38	Cilíndrico	4,84	3,15	10,68	Borda regular, micélio branco acinzentado-frente, verso centro cinza esverdeado com bordas branco amarelado, não tem setor, cottonoso
28- HEPA-PE13	9,51	3,42	Cilíndrico	4,80	3,89	9,93	Borda regular, micélio branco alaranjado centro, verso micélio branco alaranjado, não tem setor, produz muitos esporos, cottonoso

Isolados	Cultural		Morfológica	
	Colônias	Apressórios	Conídios	
2- HEGU14CE				
13- HEV2AL3				

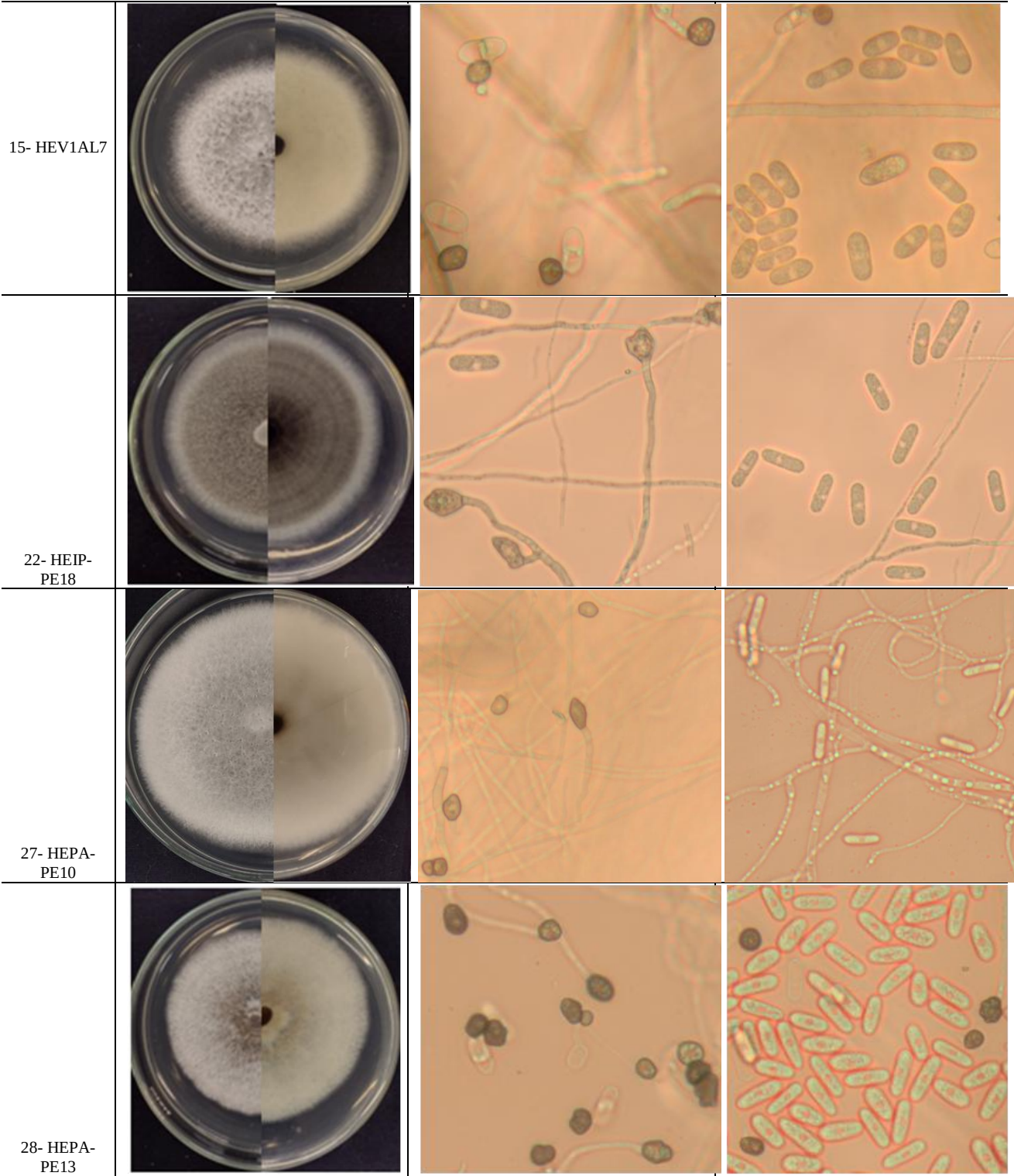


Figura 7. Aspectos culturais e morfológicos de isolados de *Colletotrichum*.

4.4. DISCUSSÃO

Neste estudo, diferentes espécies de *Colletotrichum* foram identificadas causando a doença em brácteas, flores, folhas e pecíolos de *Helicônia*. A análise da filogenia com o gene *GAPDH* foi empregada, proporcionando identificação preliminar dos isolados, além da avaliação da heterogeneidade haplotípica das espécies. Após a comparação das sequências com os acessos do banco de dados do GenBank usando o algoritmo BLASTn, e a construção das árvores de Inferência Bayesiana, juntamente com os estudos morfológicos e culturais possibilitaram agrupar os isolados em quatro complexos, sendo dois isolados no complexo *C. boninense*, doze no complexo *C. gloeosporioides*, dois no complexo *C. magnum* e um no complexo *C. gigasporum*.

As análises filogenéticas multi-locus se tornaram normas, sendo as principais regiões genômicas empregadas: gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), actina (*ACT*), quitina sintetase (*CHS-1*), β -tubulina (*TUB2*), calmodulina (*CAL*), histona (*HIS3*), glutamina sintetase (*GS*), superóxido-dismutase de manganês (*SOD*) e a região do espaçador interno transcrito (ITS) (CANNON et al., 2012; WEIR et al., 2012). Contudo, Vieira et al. (2020) estudando os marcadores ideais para a identificação de *Colletotrichum* spp. calcularam a distância do intervalo do código de barras e a sobreposição da distância intra/interespecífica para avaliar cada um dos marcadores moleculares mais comumente aplicados quanto à sua utilidade como código de barras para identificação de espécies. Os marcadores, Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), histona-3 (*HIS3*), DNA liase (*APN2*), espaçador intergênico entre DNA liase e o locus do tipo de acasalamento MAT1-2-1 (*APN2/MAT-IGS*) e espaçador intergênico entre *GAPDH* e uma proteína hipotética (*GAP2-IGS*) apresentam as propriedades de bons códigos de barras, enquanto sequências de actina (*ACT*), quitina sintase (*CHS-1*) e espaçadores transcritos internos de rDNA nuclear (nrITS) não são capazes de distinguir a maioria das espécies. Indicado como barcode secundário, o gene *GAPDH* tem sido empregado na identificação de espécies do gênero, em razão da sua combinação com outros genes, que tem possibilitado diferenciar a maioria dos táxons de forma confiável (WEIR et al., 2012; VIEIRA et al., 2020), sendo aplicado como medida inicial de diversidade em vários estudos de identificação de espécies do gênero *Colletotrichum*, associados a um hospedeiro específico (LIMA et al., 2013; SHARMA; SHENOY, 2013; LIU et al., 2016; SILVA et al., 2017; WACULICZ-ANDRADE et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2018; VIEIRA et al., 2020).

Dessa maneira, para os quatro complexos identificados no estudo, os genes foram empregados a partir da recomendação de Vieira et al (2020) os quais relataram que os genes *CAL*, *TUB2* e *GAPDH* foram os marcadores mais informativos para resolver espécies dentro de *C. boninense*. Já *APN2/MAT-IGS*, *GAP2-IGS* e *APN2* foram os mais informativos marcadores para separar espécies dentro do complexo de espécies *C. gloeosporioides*. Em relação ao complexo *C. magnum*, *HIS3*, *TUB2* e *GAPDH* foram os marcadores mais informativos para discriminar espécies dentro do complexo. Em *C. gigasporum*, *GS*, *CAL* e *GAPDH* foram os marcadores mais efetivos para discriminar espécies dentro do complexo.

Os complexos *C. gloeosporioides*, *C. boninense*, *C. magnum* e *C. gigasporum* já haviam sido descritos em várias culturas de importância econômica ao redor do mundo (SILVA et al. 2017; COSTA et al., 2019; LIU et al., 2020; AHMAD et al., 2021; BOUFLEUR et al., 2021; LAUREL et al., 2021; WANG et al., 2021). No entanto, estudos de identificação do gênero *Colletotrichum* em Helicônias ainda são poucos. Visto que são escassos os levantamentos de gêneros fúngicos e identificações baseadas em técnicas morfológicas (SOLOGUREM e JULIATTI, 2007; SARDINHA et al., 2012; LÓPEZ-VÁSQUEZ et al., 2013; SILVA et al., 2015a) e moleculares, sendo *C. gloeosporioides* a única espécie relatada (BARGUIL et al., 2009; BARGUIL et al., 2011; GURGEL et al., 2014).

Os isolados 27-HEPA-PE10, 13-HEV2AL3 e 15-HEV1AL7 se agruparam no complexo *C. gloeosporioides*. No Brasil o complexo foi relatado causando antracnose em folhas de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. (COSTA et al., 2019), e em frutos de *Capsicum* spp. na região nordeste (SILVA et al., 2017). Em vários outros países foram relatadas associação do complexo com diferentes culturas como frutos de manga na China (AHMAD et al., 2021) e citros na Austrália (WANG et al., 2021). Esse complexo é amplamente distribuído em regiões tropicais e subtropicais do mundo, afetando uma ampla diversidade de hospedeiros (COSTA et al., 2019; CHUNG et al., 2020; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021). O complexo *C. gloeosporioides* foi relatado em alguns estudos de identificação molecular de espécies do gênero, associados à antracnose em plantas de Helicônia (BARGUIL et al., 2009; BARGUIL et al., 2011; GURGEL et al., 2014). No entanto, esses estudos só relataram *C. gloeosporioides* como sendo a única espécie associada. Os resultados desse estudo empregando a análise da filogenia com o gene *GAPDH* e a região ITS proporcionou identificar três espécies distintas no complexo, porém, outros genes são necessários para complementar de forma robusta a identificação do complexo em nível de espécie.

O complexo *C. boninense* foi representado por dois isolados, 4-HEGU13CE e 2-HEGU14CE, provenientes de folhas de Helicônia. Este complexo foi relatado causando antracnose em folhas de orquídeas na China (YANG et al., 2012), além de ser associado nos últimos anos a várias frutíferas causando grandes perdas econômicas (DAMM et al., 2012b; LIMA et al., 2013; COSTA et al., 2019; CHUNG et al., 2020; WANG et al., 2021). Na cultura das anonáceas *C. boninense* foi relatado em frutos de gravioleira e pinheira, no Brasil (COSTA et al., 2019), e ocasionando antracnose em citros na Austrália (WANG et al., 2021) e em folhas e caule de mirtilo na China (LIU et al., 2020).

O complexo *C. magnum* foi representado por três isolados, 25-HEPA-PE4, 28-HEPA-PE13 e 24-HEPA-PE2, provenientes de brácteas, folhas e pecíolos em Helicônia. No Brasil, este complexo foi relatado causando antracnose em frutos de gravioleira e pinheira (COSTA et al., 2019), em frutos de *Capsicum* spp. (SILVA et al., 2017) e em frutos de chuchu (BEZERRA et al., 2016). Ocorrências da doença por *C. magnum* também foram relatadas em outras culturas em distintos lugares no mundo, em frutos de maracujá amarelo na China (QIU et al., 2021) e frutos de mamão nas Filipinas (LAUREL et al., 2021).

O isolado HEIP-PE 18 obtido de flores de Helicônia se agrupou ao complexo *C. gigasporum*. No Brasil, este complexo foi relatado causando antracnose em cotilédones, caules, pecíolos e vagens de soja (BOUFLEUR et al., 2021) e frutos de gravioleira e pinheira (COSTA et al., 2019). Ocorrências da doença por *C. gigasporum* também foram relatadas em outras culturas em distintos lugares no mundo, em folhas de pau-rosa chinês na China (WAN et al., 2018) e frutos e galhos de abacate no Sri Lanka (HUNUPOLAGAMA et al., 2015).

No entanto, ainda não há relatos de espécies dos complexos *C. boninense*, *C. magnum* e *C. gigasporum* causando antracnose em Helicônia no mundo. Nesse contexto, estudos de identificação de espécies de *Colletotrichum* utilizando a filogenia multi-locus tem se mostrado uma ferramenta molecular importante, gerando resultados confiáveis para a identificação dessas espécies (COSTA et al., 2019; CHUNG et al., 2020; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021). Sendo assim, os dados gerados neste trabalho, permitiram aumentar as informações das diferentes espécies de *Colletotrichum* que estão associadas à doença antracnose em Helicônia no Brasil.

Neste sentido, Barguil et al.(2009) realizaram estudos nos estados de Pernambuco, Ceará e Paraíba, e Gurgel et al. (2014) em Pernambuco, relataram que, apenas *C. gloeosporioides* causava antracnose em Helicônia. Todavia, os resultados preliminares

encontrados nesta pesquisa contestam os achados desses outros estudos quanto à ocorrência de mais de uma espécie de *Colletotrichum* ocasionando antracnose em Helicônia.

Apesar do complexo *C. gloeosporioides* ser considerado o principal agente causal da antracnose em diversas culturas, a associação de mais de uma espécie deste patógeno causando a antracnose em um mesmo hospedeiro tem sido relatado com mais frequência (SILVA et al., 2017; COSTA et al., 2019; CHUNG et al., 2020; WANG et al., 2021). Semelhante ao observado neste estudo, a ocorrência de mais de uma espécie de *Colletotrichum* causando antracnose também foi relatada em outras culturas, como por exemplo, *C. gloeosporioides* stricto sensu, *C. brevisporum*, *C. cliviae*, *C. fructicola*, *C. gigasporum*, *C. karstii*, *C. siamense*, *C. theobromicola* e *C. tropicale* em pinheira e gravioleira no Brasil (COSTA et al., 2019), assim como em outras frutícolas, como *C. theobromicola*, *C. karstii* e *C. siamense* associados à antracnose de citros na Austrália (WANG et al., 2021), *C. brevisporum* e *C. truncatum* em mamão nas Filipinas (LAUREL et al., 2021), *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. kahawae*, *C. karstii*, *C. nymphaeae* e *C. sichuaninense* e em folhas e caule de mirtilo na China (LIU et al., 2020), *C. siamense*, *C. fructicola*, *C. boninense*, *C. karstii* e *C. miaoliense* em morango em Taiwan (CHUNG et al., 2020), além de leguminosas, como *C. chlorophyti*, *C. musicola*, *C. plurivorum*, *C. sojae* e *C. truncatum* em soja (BOUFLEUR et al., 2021). Silva et al. (2017) relataram as espécies: *C. brevisporum*, *C. scovillei*, *C. siamense*, *C. tropicale* e *C. truncatum* responsáveis por compor o complexo de espécies associadas à antracnose de *Capsicum* spp. no nordeste do Brasil.

Nesse contexto, esses resultados são extremamente preocupantes do ponto de vista agrônomo, pois a ocorrência de mais de uma espécie de *Colletotrichum* parasitando no mesmo hospedeiro dificulta ainda mais o controle da antracnose, e, consequentemente, aumenta a importância dessa doença para as distintas culturas exploradas comercialmente, devido ao comportamento diferenciado entre espécies de *Colletotrichum*, que podem apresentar variações na sensibilidade aos fungicidas utilizados (SILVEIRA et al., 2020).

Nesta pesquisa, foi utilizada a abordagem molecular com o gene *GAPDH* para identificação preliminar dos isolados e avaliação da diversidade haplotípica das espécies, e os genes *CAL*, *TUB*, e a região ITS, porém outros genes serão necessários para uma identificação robusta em nível de espécie. Entretanto, esses resultados indicam que a diferenciação da maioria das espécies de *Colletotrichum* obtidas em Helicônias, apresentam elevada diversidade genética. A análise filogenética utilizada neste estudo evidenciou que, os complexos *C. gloeosporioides* e *C. brevisporum* estão associados à doença antracnose em

Helicônias, possuindo os maiores número de isolados agrupados (3 isolados), sendo, portanto, os grupos com maiores números de espécies causadoras da doença nesta cultura, seguido do complexo *C. boninense* com 2 isolados e o *C. gigasporum* se agrupando a somente 1 isolado. Dessa forma, a maioria dos complexos de *Colletotrichum* spp. não apresentam especificidade a um único hospedeiro, somando-se a isto o cultivo de diferentes culturas na mesma área ou em áreas geograficamente próximas, aumenta a dispersão de propágulos, o que explica parcialmente a predominância de espécies dentro do mesmo complexo como os principais causadores da antracnose em culturas exploradas comercialmente e espécies nativas (WEIR et al., 2012; COSTA et al., 2019; JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021). Esses resultados são convergentes com os de vários outros estudos publicados nos últimos anos, confirmando a ocorrência de vários complexos de *Colletotrichum* spp. responsáveis pela antracnose em diferentes culturas (SILVA et al., 2017; COSTA et al., 2019; CHUNG et al., 2020; LIU et al., 2020; JAYAWARDENA et al., 2021; WANG et al., 2021).

Os resultados encontrados no presente estudo são convergentes com Barguil et al. (2009), Barguil et al. (2011) e Gurgel et al. (2014) que em estudos realizados na região nordeste do Brasil, observaram a doença antracnose em várias espécies de Helicônia em diversas cidades da Paraíba, Ceará e Pernambuco. Os autores afirmaram que identificaram através de características morfológicas e moleculares utilizando a região ITS-DNA, somente a espécie *C. gloeosporioides*. Sobrinho et al. (2015) estudando a ocorrência de doenças, através de sintomas e sinais em folhas e pseudocaule, verificou que a doença de maior ocorrência em *Helicônia* spp. na região Litoral Sul da Bahia é a antracnose. Na Ilha de São Luís no Maranhão, Sardinha et al. (2012) observaram sintomas da doença em folhas de distintas espécies de Helicônia, ocasionando manchas foliares de coloração marrom ou negra, com bordos bem definidos, influenciando a taxa fotossintética e reduzindo a produção. Relataram que caso o patógeno atinja a parte comercial da cultura inviabiliza sua comercialização. Dessa maneira, todos esses resultados reforçam a importância dessa doença para as Helicônias e demonstram a ampla distribuição geográfica das espécies de *Colletotrichum*, principalmente na região nordeste do Brasil.

Todas as espécies de *Colletotrichum* identificadas neste estudo induziram manchas de coloração marrom, com bordos bem definidos, sintomas típicos de antracnose encontrados em folhas de helicônias descritos por Sardinha et al. (2012). Testes de patogenicidade são extremamente importantes para os estudos epidemiológicos, que são responsáveis pela

identificação, verificando se uma determinada espécie de *Colletotrichum* é específica em determinado hospedeiro ou possui mais de um hospedeiro (CAI et al., 2009).

Os resultados encontrados neste trabalho para as características culturais das colônias de cada complexo de *Colletotrichum* spp. estão convergentes com os descritos em outros estudos publicados. As colônias dos isolados de *Colletotrichum* apresentaram ampla variação na coloração, estes resultados são semelhantes aos estudos de vários autores (DAMM et al., 2014; BEZERRA et al., 2016; SILVA et al., 2017; COSTA et al., 2019; SILVA-CABRAL et al., 2020). Neste sentido, diversos fatores podem influenciar na estabilidade e aspectos das colônias, como por exemplo, a temperatura, armazenamento, luminosidade e meio da cultura (VIEIRA et al., 2018; KHODADADI et al., 2020).

4.5. CONCLUSÕES

Os isolados foram agrupados nos complexos *C. boninense*, *C. gloeosporioides*, *C. magnum* e *C. gigasporum*.

Este é o primeiro relato das espécies *C. alienum*, *C. brevisporum*, *C. gigasporum*, *C. karstii*, *C. theobromicola* e *C. tropicale* no gênero *Heliconia*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, T.; WANG, J.; ZHENG, Y.; MUGIZI, A. E.; MOOSA, A.; NIE, C.; LIU, Y. First Record of *Colletotrichum alienum* Causing Postharvest Anthracnose Disease of Mango Fruit in China. **Plant Disease**, v. 105, n. 6, 2021. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-20-2074-PDN>
- AKI, A.; PEDROSA, J. M. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 8 n. 1/2, p. 13-23, 2002. <https://doi.org/10.14295/rbho.v8i1.304>.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G. Produção, Determinação e Calibração da Concentração de Inóculo em Suspensão. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: UFV, 2007. p. 103-116.
- ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- BARGUIL, B. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; COELHO, R. S. B.; PESSOA, W. R. L. S. Agressividade e produção de exoenzimas de *Colletotrichum* isolados de plantas ornamentais tropicais. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, p. 200-204, 2011. <https://doi.org/10.5216/pat.v41i2.9024>.
- BARGUIL, B. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; COELHO, R. S. B.; JÚNIOR, J. E. A. B. Identificação e variabilidade genética de isolados de *Colletotrichum* causando antracnose em inflorescências de plantas ornamentais tropicais. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, pp. 1639-1646 2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000126>.
- BEZERRA, J. P.; FERREIRA, P. V.; BARBOSA, L. F.; SOBRINHO, R. R.; PINHO, D. B.; REIS, A.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A. First Report of Anthracnose on Chayote Fruits (*Sechium edule*) Caused by *Colletotrichum brevisporum*. **Plant Disease**, v. 100, n. 1, p. 5–9, 2016. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-15-0793-PDN>.
- BOUFLEUR, T. R.; GUILLARDI, M. C.; TIKAMI, Í.; ROGÉRIO, F.; THON, M. R.; SUKNO, S. A.; JÚNIOR, N. S. M.; BARONCELLI, R. Soybean anthracnose caused by *Colletotrichum* species: Current status and future prospects. **Molecular Plant Pathology**, v. 22, n. 4, p. 393-409, 2021. <https://doi.org/10.1111/mpp.13036>

BRAGA, J. M. A. 2015. Heliconiaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7954>>. Acesso em 27 Jul. 2019.

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

CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum*-current status and future directions. **Studies Mycology** v. 73, p. 181–213, 2012. <https://doi.org/10.3114%2Fsim0014>

CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man sterile distilled water. Further researches. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 70, p. 181-184. 1967.

CHUNG, P. C.; WU, H. Y.; WANG, Y. W.; ARIYAWANSA, H. A.; HU, H. P.; HUNG, T. H.; TZEAN, S. S.; CHUNG, C. L. Diversity and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing strawberry anthracnose in Taiwan and description of a new species, *Colletotrichum miaoliense* sp. **Scientific Reports**, v. 10, p. 1-16, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70878-2>.

COSTA, J. F. O.; KAMEI, S. H.; SILVA, J. R. A.; MIRANDA, A. R. G. S.; NETTO, M. B.; SILVA, S. J. C.; CORREIA, K. C.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. Species diversity of *Colletotrichum* infecting *Annona* spp. in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**. v. 153, p. 1119-1130, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-01630-w>.

DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUTENBERG, J. H.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S.; TAN, Y. P.; SHIVAS, R. G.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 1-36, 2012b. <https://doi.org/10.3114/sim0002>

DAMM, U.; O'CONNELL, R. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum destructivum* species complex – hemibiotrophic pathogens of forage and field crops. **Studies in Mycology**, v. 79, p. 49-84, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.003>

- DAMM, U.; SATO, T.; ALIZADEH, A.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. **Studies in Mycology**, v. 92, p. 1-46, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.04.001>
- DEAN, R.; KAN, J. A. L. V.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G.D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- DOYLE, J. D.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p.11-15, 1987.
- DOYLE, V. P.; OUDEMANS, P. V.; REHNER, S. A.; LITT, A. Habitat and host indicate lineage identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. from wild and agricultural landscape in North America. **PLoS ONE** v. 8, n. 5, p. 1–21, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062394>
- GHINI, R; HAMADA, E.; BETTIOL, W. **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 356 p., 2011. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/905258>>. Acesso: Maio de 2021.
- GLASS, N. L., DONALDSON, G. Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied Environmental Microbiology**. v. 61, p.1323-1330. 1995.
- 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**, v. 95, n. 5, p. 872-895, 2003.
- GURGEL, L. M. S.; COELHO, R. S. B.; SILVA, R. L. X.; OLIVEIRA, S. M. A.; ROSA, R. C. T.; ASSIS, T. C.; ANDRADE, D. E. G. T. Metodologia alternativa no manejo da antracnose pós-colheita em *Heliconia rostrata*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 19, n. 1, p. 20-24, 2014. <https://doi.org/10.12661/pap.2014.004>

HOU, L. W.; LIU, F.; DUAN, W. J.; CAI, L. *Colletotrichum aracearum* and *C. camelliae-japonicae*, two holomorphic new species from China and Japan. **Mycosphere**, v. 7, n.8, p. 1111-1123, 2016. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/si/2c/4>

HUANG, F.; CHEN, G. Q.; HOU, X.; FU, Y. S.; CAI, L.; HYDE, K. D.; LI, H. Y. *Colletotrichum* species associated with cultivated citrus in China. **Fungal Divers**, v. 61, p. 61–74, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-013-0232-y>

HUNUPOLAGAMA, D. M.; WIJESUNDERA, R. L. C.; CHANDRASEKHARAN, N. V.; WIJESUNDERA, W. S. S.; KATHRIARACHCHI, H. S.; FERNANDO, T. H. P. S. Characterization of *Colletotrichum* isolates causing avocado anthracnose and first report of *C. gigasporum* infecting avocado in Sri Lanka. **Plant Pathology & Quarantine**, v. 5, n. 2, p. 132–143, 2015. <https://doi.org/10.5943/ppq/5/2/10>

JAYAWARDENA, R. S.; BHUNJUN, C. S.; HYDE, K. D.; GENTEKAKI, E. ITTHAYAKORN, P. *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. **Mycosphere**, v. 12, p. 519–669, 2021. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/12/1/7>.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Las exportaciones brasileñas de flores y plantas ornamentales crecieron más del 124% entre 2001 y 2006. **Horticultura Internacional**, v. 1, n. 56, p. 76-78, 2007.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014. <http://dx.doi.org/10.14295/rbho.v20i2.727>

KHODADADI, F.; GONZÁLEZ, J. B.; MARTIN, P. L.; GIROUX, E.; BILODEAU, G. J.; PETER, K. A.; DOYLE, V. P.; ACÍMOVIĆ, S. G. Identification and characterization of *Colletotrichum* species causing apple bitter rot in New York and description of *C. noveboracense* sp. **Scientific Reports**, v. 10, p. 1-19, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66761-9>.

KRESS, J. The diversity and distribution of *Heliconia* (Heliconiaceae) in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 159-167, 1990. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061990000100011>

- LAUREL, N. R.; MAGDALITA, P. M.; CUEVA, F. M. D. Identification and characterization of *Colletotrichum brevisporum* and *C. truncatum* causing papaya anthracnose in the Philippines. **Journal of Phytopathology**, v. 169, n. 11-12, p. 692-700, 2021. <https://doi.org/10.1111/jph.13039>
- LIMA, N. B.; BATISTA, V. A. M.; MORAIS, M. A. J.; BARBOSA, M. A. G.; MICHEREFF, S. J.; HYDE, K. D.; CÂMARA, M. P. S. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Divers**, v. 61, p. 75–88, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s13225-013-0237-6>
- LIU, F.; MA, Z. Y.; HOU, L. W.; DIAO, Y. Z.; WU, W. P.; DAMM, U.; SONG, S.; CAI, L. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. **Studies in Mycology**, v. 101, p. 1–56, 2022. <https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.01>
- LIU, F.; TANG, G.; ZHENG, X.; LI, Y.; SUN, X.; QI, X.; ZHOU, Y.; XU, J.; CHEN, H.; CHANG, X.; ZHANG, S.; GONG, G. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. **Scientific Reports**, v. 6, n. 32761, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep32761>
- LIU, X.; ZHENG, X.; KHASKHELI, M. I.; SUN, X.; CHANG, X.; GONG, G. Identification of *Colletotrichum* Species Associated with Blueberry Anthracnose in Sichuan, China. **Pathogens**, v. 9, n. 718, p. 1-15. 2020. <https://doi.org/10.3390/pathogens9090718>
- LÓPEZ-VÁSQUEZ, J. M.; MARULANDA, M. L.; LÓPEZ, A. M. Factores climáticos y su influencia en la expresión de enfermedades fúngicas en cultivares de Heliconias. **Universitas Scientiarum**, v.18, n. 3, p. 331- 344, 2013. <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.SC18-3.fcie>
- MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for Inference of Large Phylogenetic Trees. **Conference Paper**, 2010. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>
- O'DONNELLK, CIGELNIK, E. Two divergent intragenomic rDNAITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. **Molecular Phylogenetic Evolution**, v. 7, p. 103-116, 1997.
- OLIVEIRA, L. F. M.; FEIJÓ, F. M.; MENDES, A. L. S. F.; NETO, J. D. V. Identification of *Colletotrichum* species associated with brown spot of cactus prickly pear in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 3, p. 247-253, 2018. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0215-3>.

PINHEIRO, P. G. L.; LEITE, K. P.; LIRA JUNIOR, M. A.; LOGES, V.; CASTRO, M. F. A. *Heliconia* characteristics for landscape use. **Acta Horticulturae**, v. 953, p. 293-298, 2012. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.953.40>

POSADA, D.; BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic Biology**, v. 53, p. 793-808. 2004. <https://doi.org/10.1080/10635150490522304>

QIU, F.; LI, X.; XIE, C. P.; LI, J.; ZHENG, F. Q. Identification of *Colletotrichum brevisporum* causing fruit rot in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) in China. **Australasian Plant Pathology**, v. 50, p. 229–232, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13313-020-00766-w>

ROJAS, E.I. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. **Mycologia**, v. 102, p. 1318–1338, 2010.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; MARK, P. V. D.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HOHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M. A.; HUELSENBECK, J. P. Mr Bayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematic Biology**, v. 61, n. 3, p. 539-42, 2012. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

SARDINHA, D. H. S.; RODRIGUES, A. A. C.; DINIZ, N. B.; LEMOS, R. N. S.; SILVA, G. S. Fungos e nematóides fitopatogênicos associados ao cultivo de flores tropicais em São Luís–MA. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 2, p. 159-162, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052012000200010>

SHARMA, G.; SHENOY, B. D. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 47, n. 10, p. 1179-1194, 2013. <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.833749>

SILVA, C. G.; HIEGA, K. M. R.; DALBOSCO, E. Z.; SILVA, C. A.; ARAÚJO, D. V. Fitossanidade em plantas tropicais no estado de Mato Grosso. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 11 n. 22, p. 2015a. http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_159

SILVA, J. R. A.; CHAVES, T. P.; SILVA, A. R. G.; BARBOSA, L. F.; COSTA, J. O.; SOBRINHO, R. R.; TEIXEIRA, R. R. O.; SILVA, S. J. C.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 4, p. 315-319, 2017. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0151-7>

SILVA-CABRAL, J. R. A.; SILVA, J. L.; SOARES, L. S. H.; COSTA, J. F. O.; AMORIM E. P. R.; LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P. First Report of *Colletotrichum fructicola* and *C. tropicale* causing anthracnose on orchids in Brazil. **Plant Disease**, v.103, p. 2672-2672, 2019. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-19-0518-PDN>.

SILVEIRA, A. L.; SOARES, M. G. O.; GUIMARÃES, S. S. C.; PEREIRA, F. D.; POZZEBON, B. C.; ALVES, E. Avaliação da sensibilidade *in vitro* de isolados de *Colletotrichum* spp. a fungicidas. **Nativa**, v. 8, p. 1-7, 2020. <http://dx.doi.org/10.31413/nativa.v8i1.7443>.

SOBRINHO, C. C. M.; BEZERRA, J. L.; SILVEIRA, A. J.; BITTENCOURT, M. A. L. Fitopatógenos associados às doenças de *Heliconia* spp., em cultivos comerciais no Litoral Sul da Bahia. **Agrotrópica**, v. 27, n. 1, p. 25 - 32. 2015. <http://dx.doi.org/10.21757/0103-3816.2015v27n1p25-32>

SOLOGUREN, F. J.; JULIATTI, F. C. Doenças fúngicas em plantas ornamentais em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, p. 45-52, 2007.

SUSSEL, A. A. B. **Caracterização de isolados de *Colletotrichum lagenarium*, agente causal da antracnose das cucurbitáceas**. Dissertação. Piracicaba. São Paulo. 2005.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes**: fungi imperfecti with pycnidia, acervular and stromata. Kew: Commonw Mycological Institute, 696p., 1980.

SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGGER, M. J. (Ed.) *Colletotrichum – Biology, Pathology and Control*. Wallingford: CAB International, p. 1-26, 1992.

TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. **Fungal Diversity**, v. 110, p. 109–198, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00491-9>

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Natural Resources Conservation Service. **Classification for Kingdom Plantae Down to Genus *Heliconia* L.** Disponível em: <<https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=HELIC2>>. Acesso em: Junho de 2022.

VIEIRA, W. A. S.; BEZERRA, P. A.; SILVA, A. C.; VELOSO, J. S.; CÂMARA, M. P. S.; V. P. DOYLEB. Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 143, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.106694>

VIEIRA, W. A. S.; LIMA, W. G.; NASCIMENTO, E. S.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S.; DOYLE, V. P. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with Musa. **Mycologia**, v. 109, p. 912-934, 2018. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1418577>

WACULICZ-ANDRADE, C. E.; SAVI, D. C.; BINI, A. P.; ADAMOSKI, D.; GOULIN, E. H.; SILVAJR, G. J.; MASSOLAJR, N. S.; TERASAWA, L. G.; KAVA, V. *Colletotrichum gloeosporioides* sensu stricto: na endophytic species or citrus pathogen in Brazil. **Australasian Plant Pathology**, v. 46, n. 2, p. 191-203, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0476-1>

WAN, Z.; LIU, J. A.; ZHOU, G. Y. First Report of *Colletotrichum gigasporum* Causing Anthracnose on *Dalbergia odorifera* in China. **Plant Disease**, v. 102, n. 3, p. 473–482, 2018. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1286-PDN>

WANG, W.; SILVA, D. D.; MOSLEMI, A.; EDWARDS, J.; ADES, P. K.; CROUS, P. W.; TAYLOR, P. W. J. *Colletotrichum* Species Causing Anthracnose of *Citrus* in Australia. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 1, p. 47, 2021. <https://doi.org/10.3390/jof7010047>

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 115-180, 2012. <https://doi.org/10.3114/sim0011>

WHITE, T. J, BRUNS, T. LEE, S., TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). **Academic Press**, New York, USA: p. 315-322. 1990.

YANG, Y.; CAI, L.; YU, Z.; LIU, Z.; K. D. HYDE. *Colletotrichum* species on Orchidaceae in southwest China. **Cryptogamie Mycologie**, v. 32, p. 229-253, 2012. <https://doi.org/10.7872/crym.v32.iss3.2011.229>.

ZAUZA, E. A. V.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, G. R. (2007). **Esterilização, preparo, de meios de cultura e fatores associados ao cultivo de fitopatógenos.** In: ALFENAS, C. A.; MAFIA, R. G. (eds). Métodos em fitopatologia. Viçosa: UFV, pp 42.

5. AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE A FUNGICIDAS DE *Colletotrichum* spp. IDENTIFICADAS EM *Helicônia* spp.

RESUMO

Nos cultivos de *Helicônia*, a antracnose é uma doença causada por fungos do gênero *Colletotrichum*, responsável por prejuízos devido difícil controle, pois os sintomas deixam as hastes florais impróprias para a comercialização. O manejo é realizado mediante o sistema convencional de produção agrícola, contudo, a cultura da *helicônia* não possui nenhum fungicida registrado na plataforma Agrofit pelo MAPA. Nesse sentido, por não ter produtos registrados, além das espécies de *Colletotrichum* possuírem comportamento diferenciado à diferentes fungicidas, são necessários pesquisas para auxiliar e direcionar a escolha dos ingredientes ativos mais eficientes para o controle da antracnose. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de fungicidas distintos sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. identificadas na família Heliconiaceae. Testes *in vitro* com os fungicidas Score (Difenoconazol) e Amistar Top (Difenoconazole + Azoxistrobina) foram realizados para avaliar a inibição do crescimento micelial pelo método de incorporação de fungicidas ao meio de cultura BDA. Foram avaliadas 6 espécies de *Colletotrichum* identificadas mediante análise filogenética multi-locus e caracteres morfoculturais no gênero *Heliconia*: *C. alienum*, *C. brevisporum*, *C. gigasporum*, *C. karstii*, *C. theobromicola* e *C. tropicale*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 6x2x5 (6 espécies de *Colletotrichum* x 2 fungicidas x 5 concentrações). As concentrações utilizadas foram: 100, 500, 1000, 5000 e 10000 mg L⁻¹. Para cada tratamento foram empregadas 5 repetições, sendo a unidade experimental uma placa de Petri. As testemunhas consistiram da inoculação de discos miceliais diretamente no meio BDA sem a adição de fungicidas. Todas as concentrações testadas dos fungicidas Amistar Top e Score reduziram o crescimento micelial e a taxa de crescimento das seis espécies distintas de *Colletotrichum* identificadas mediante emprego da abordagem polifásica, através de análises filogenéticas multi-locus associadas a características morfoculturais e patogênicas. Os fungicidas Score e Amistar Top foram capazes de controlar *in vitro* as espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em *Heliconia* spp. Todas as espécies de *Colletotrichum* foram sensíveis aos ingredientes ativos, obtendo os maiores valores de sensibilidade na concentração de 10000 mgL⁻¹ dos fungicidas avaliados.

Palavras-chave: Controle químico, Heliconiaceae, Agroquímicos.

ABSTRACT

In Heliconia crops, anthracnose is a disease caused by fungi of the genus *Colletotrichum*, responsible for losses due to difficult control, as the symptoms leave the flower stems unfit for commercialization. The management is carried out through the conventional agricultural production system, however, the heliconia crop does not have any fungicide registered on the Agrofit platform by MAPA. In this sense, because there are no registered products, in addition to the *Colletotrichum* species having different behavior to different fungicides, research is needed to help and direct the choice of the most efficient active ingredients for the control of anthracnose. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of different fungicides on the mycelial growth of *Colletotrichum* spp. identified in the Heliconiaceae family. *In vitro* tests with the fungicides Score (Difenoconazole) and Amistar Top (Difenoconazole + Azoxystrobin) were carried out to evaluate the inhibition of mycelial growth by the method of incorporating fungicides into the PDA culture medium. Six species of *Colletotrichum* identified by multi-locus phylogenetic analysis and mold-cultural characters in the genus *Heliconia* were evaluated: *C. alienum*, *C. brevisporum*, *C. gigasporum*, *C. karstii*, *C. theobromicola* and *C. tropicale*. The experimental design was completely randomized (DIC), in a 6x2x5 factorial scheme (6 species of *Colletotrichum* x 2 fungicides x 5 concentrations). The concentrations used were: 100, 500, 1000, 5000 and 10000 mg L⁻¹. For each treatment, 5 replicates were used, with a Petri dish as the experimental unit. The controls consisted of the inoculation of mycelial discs directly in the PDA medium without the addition of fungicides. All tested concentrations of Amistar Top and Score fungicides reduced mycelial growth and the growth rate of the six distinct *Colletotrichum* species identified using the polyphasic approach, through multi-locus phylogenetic analyzes associated with morphocultural and pathogenic characteristics. Score and Amistar Top fungicides were able to control *in vitro* the *Colletotrichum* species associated with anthracnose in *Heliconia* spp. All *Colletotrichum* species were sensitive to the active ingredients, obtaining the highest sensitivity values at the concentration of 10000 mgL⁻¹ of the evaluated fungicides.

Keywords: Chemical control, Heliconiaceae, Agrochemicals.

5.1. INTRODUÇÃO

As helicônias são conhecidas popularmente como pacová, banana-do-mato, bico-de-guará, caetê, pássaro-de-fogo, paquevira, falsa-ave-do-paraíso, bananeira-de-jardim e bico-de-papagaio (ATEHORTUA, 1998; MOSCA; CAVALCANTE, 2005; SILVA et al., 2015b). Possuem um único gênero *Heliconia*, inserido na família Heliconiaceae, apresentam porte herbáceo, ciclo perene e são caracterizadas por suas brácteas coloridas e brilhantes que conferem valor comercial (KRESS, 1990; USDA, 2022). São utilizadas como flores de corte e no paisagismo, tanto em vasos como em arranjos florais. (PINHEIRO et al., 2012). A cultura está entre as plantas ornamentais mais cultivadas na Região Nordeste do Brasil, em decorrência das condições ambientais propiciarem o cultivo com qualidade, Alagoas, Ceará e Pernambuco são os principais estados produtores e exportadores dessa região (AKI; PEDROSA, 2002; JUNQUEIRA; PEETZ, 2007; JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

Na produção de flores de corte, as doenças configuram um importante entrave enfrentado por produtores, causando perdas significativas. Os agentes bióticos dessas doenças incluem vírus, bactérias, fungos e oomicetos (BEBBER; GURR, 2015). Todavia, os fungos são considerados um dos principais agentes associados às doenças, em virtude da ampla distribuição, elevado número de espécies fitopatogênicas e grande variedade de hospedeiros suscetíveis (DEAN et al., 2012). Entre as quais, a antracnose, que configura como importante entrave enfrentado por produtores de helicônias (SARDINHA et al., 2012; SOBRINHO et al., 2015).

O gênero *Colletotrichum* é considerado como importante patógeno de plantas, as espécies são responsáveis por causar uma variedade de doenças, incluindo a antracnose em diversas culturas econômicas (JAYAWARDENA et al., 2021; TALHINHAS; BARONCELLI, 2021; LIU et al., 2022). A ocorrência da doença em espécies de helicônias foi relatada em vários estados no Brasil, causando prejuízos diretos, pela redução do valor das flores para o comércio, em consequência de os sintomas deixarem as hastes florais impróprias para a comercialização, e indiretos, através do alto custo no manejo da cultura (SOLOGUREN; JULIATTI 2007; SARDINHA et al., 2012; SOBRINHO et al., 2015).

Nos cultivos agrícolas, essas doenças que prejudicam a produção são manejadas através do sistema convencional de produção agrícola (MARIANI et al., 2015; AMORIM et al., 2018), realizado mediante emprego de agrotóxicos de alta periculosidade, esses produtos quando utilizados incorretamente, ocasionam desequilíbrios biológicos e ecológicos

(TAKESHITA et al., 2014), além de complicações a saúde humana (SHEAHAN et al., 2017). No entanto, o controle químico realizado de forma adequada e consciente é um dos mais importantes métodos de manejo de doenças, considerado eficiente e economicamente viável, garantindo alta produtividade e qualidade da produção (AMORIM et al., 2018). Contudo, a cultura da helicônia não possui nenhum fungicida registrado pelo Ministério da Agricultura (AGROFIT, 2023). Além do mais, há uma escassez na literatura científica em relação ao controle da antracnose em helicônias, apenas recomendações em alguns estudos (MOSCA et al., 2005; SOSOF et al., 2006; LAMAS, 2007).

Nesse sentido, por não ter produtos registrados, além das espécies de *Colletotrichum* possuírem comportamento diferenciado em relação aos diferentes fungicidas, são necessários pesquisas para auxiliar e direcionar a escolha dos ingredientes ativos mais eficientes para o controle da antracnose (AGROFIT, 2023; LIMA et al., 2015). Desta forma, estudos comparativos em função do efeito dos diferentes fungicidas sobre as distintas espécies que ocorrem em helicônias necessitam ser desenvolvidos com o propósito de evitar a resistência dos patógenos pela utilização indiscriminada desses produtos químicos. Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. identificadas em plantas de *Helicônia* spp.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Obtenção dos isolados de *Colletotrichum* spp.

Os isolados utilizados no experimento, provenientes dos resultados do estudo de identificação de espécies do gênero *Colletotrichum* através da caracterização molecular e morfocultural obtidas a partir de plantas de diferentes espécies da família Heliconiaceae, foram obtidos de sintomas de antracnose em folhas, brácteas, pecíolos e flores de Helicônias em plantios comerciais no estado de Alagoas, Ceará e Pernambuco e identificados por Inferência Bayesiana baseados nas análises multi-locus dos genes β -tubulina (*TUB2*), calmodulina (*CAL*), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*) e região do espaço interno transcrito (ITS), como *C. theobromicola*, *C. brevisporum*, *C. tropicale*, *C. karstii*, *C. gigasporum* e *C. alienum*.

5.2.2. Condução do experimento *In Vitro*

Neste estudo, os fungicidas utilizados estão descritos na tabela 1. Para o preparo dos meios de cultura com fungicidas, foi realizada a técnica descrita por Edgington et al. (1971), modificada por Menten et al. (1976). Os fungicidas foram dissolvidos diretamente em água destilada esterilizada e, em seguida, foi completado seu volume até 100 mL, para obtenção de uma solução estoque de 100.000 mg L⁻¹ do ingrediente ativo. A partir da solução estoque, foi feita uma diluição em série, de tal maneira que cada mL dessa solução, quando adicionada a 99 mL de meio BDA fundente, produziu a concentração desejada. O meio de cultura com o fungicida foi agitado para homogeneização dos mesmos, e posteriormente, foram vertidos em placas de Petri. Discos de 5mm de diâmetro contendo as estruturas fúngicas, com 7 dias de crescimento das seis espécies de *Colletotrichum*, foram colocados no centro de placas de Petri, contendo meio BDA sintético, suplementado com os fungicidas. As placas foram mantidas em câmara BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), à temperatura de 25°C $\pm$ 1 com fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 6x2x5 (6 espécies de *Colletotrichum* x 2 fungicidas x 5 concentrações). As concentrações utilizadas foram: 100, 500, 1000, 5000 e 10000 mg L⁻¹. Para cada tratamento foram empregadas com cinco repetições, sendo a unidade experimental uma placa de Petri. As testemunhas consistiram da inoculação de discos miceliais diretamente no meio BDA sem a adição de fungicidas.

5.2.3. Avaliação do experimento *In Vitro*

O crescimento das colônias foi mensurado diariamente até que a colônia tomasse toda a superfície do meio de cultura de pelo menos uma das placas ou no período máximo de 7 dias. As avaliações tiveram início 24 horas após o preparo das placas. O crescimento foi estimado através da média de duas medidas perpendiculares do diâmetro da colônia, com o auxílio de régua graduada, obtendo-se o valor diário para cada repetição de cada tratamento. Com o resultado das medidas, foram calculados a porcentagem de inibição micelial (PIC; BASTOS, 1997) e o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM; OLIVEIRA, 1991), de acordo com as fórmulas (1) e (2):

$$PIC = \frac{(\text{Crescimento da testemunha} - \text{Crescimento do tratamento}) \times 100}{\text{Crescimento da testemunha}} \quad (1)$$

$$IVCM = \sum \frac{\text{Diâmetro médio atual} - \text{Diâmetro médio anterior}}{\text{Número de dias após a inoculação}} \quad (2)$$

5.2.4. Análise estatística

As concentrações dos fungicidas Score e Amistar Top na inibição e a resposta em crescimento das espécies de *Colletotrichum* foram ajustadas ao modelo de regressão polinomial. A hipótese de que os parâmetros do modelo gerado diferem significativamente de zero foi testada aplicando-se o teste Anova. Para testar a diferença entre os tratamentos com os fungicidas nas diferentes concentrações e o tratamento com as espécies distintas de *Colletotrichum*, foram aplicadas comparações múltiplas pelo teste Tukey. Testes paramétricos foram utilizados para verificar se houve diferença significativa entre os tratamentos. Diferenças com valores de probabilidade abaixo de 5% foram consideradas significativas. As regressões foram realizadas no programa R Studio 12.0 (R Studio, 2022).

Tabela 4. Fungicidas utilizados nos testes do controle *in vitro* de *Colletotrichum* spp.

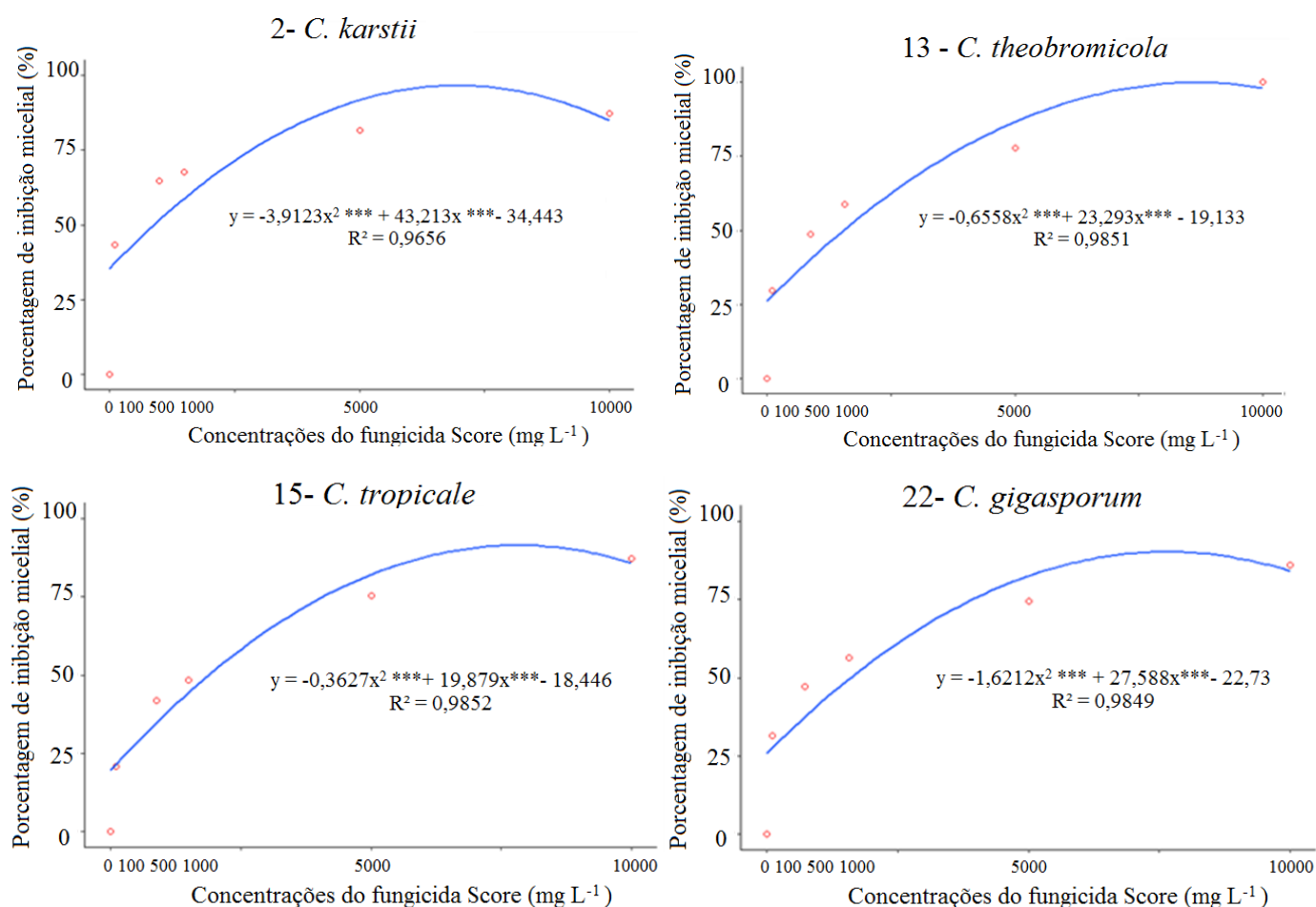
Nome comercial	I.A. ¹	C.I.A. ²	G. FRAC - Modo de ação	Grupo químico	Tipo
Amistar Top	Azoxistrobina + difenoconazol	200 g/L + 125 g/L	C3- Inibidores de extracelulares de Quinona - QoIs – G1- inibidores de desmetilação – DMIs)	Estrobilurina + Triazol	Sistêmico
Score 250 CE	Difenoconazole	250g/L	G1- Inibidor da biosíntese de ergosterol	Triazol	Sistêmico

¹Ingrediente ativo; ²Concentração do ingrediente ativo; Grupo (FRAC - Comitê de Ação à Resistência de Fungicidas)

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Porcentagem de inibição micelial

Todas as concentrações testadas dos fungicidas Amistar Top e Score reduziram o crescimento micelial e a taxa de crescimento das seis espécies distintas de *Colletotrichum* identificadas mediante emprego da abordagem polifásica, através de análises filogenéticas multi-locus associadas a características morfoecológicas e patogênicas. Utilizando a equação gerada pela regressão com o modelo polinomial, compararam-se as diferentes concentrações dos dois fungicidas, a porcentagem de inibição cresceu conforme o aumento na concentração. A maior concentração (10000 mg L⁻¹) obteve os melhores resultados na inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. Essa concentração foi capaz de inibir totalmente (100%) o crescimento da espécie 13-*C. theobromicola*, e acima de 70,81% para os outros isolados empregando o fungicida Score (Figura 1). Já a maior porcentagem de inibição (95,94%) para o fungicida Amistar Top foi obtida na espécie 2-*C. karstii*, e acima de 69,43% para as demais espécies. (Figura 8).



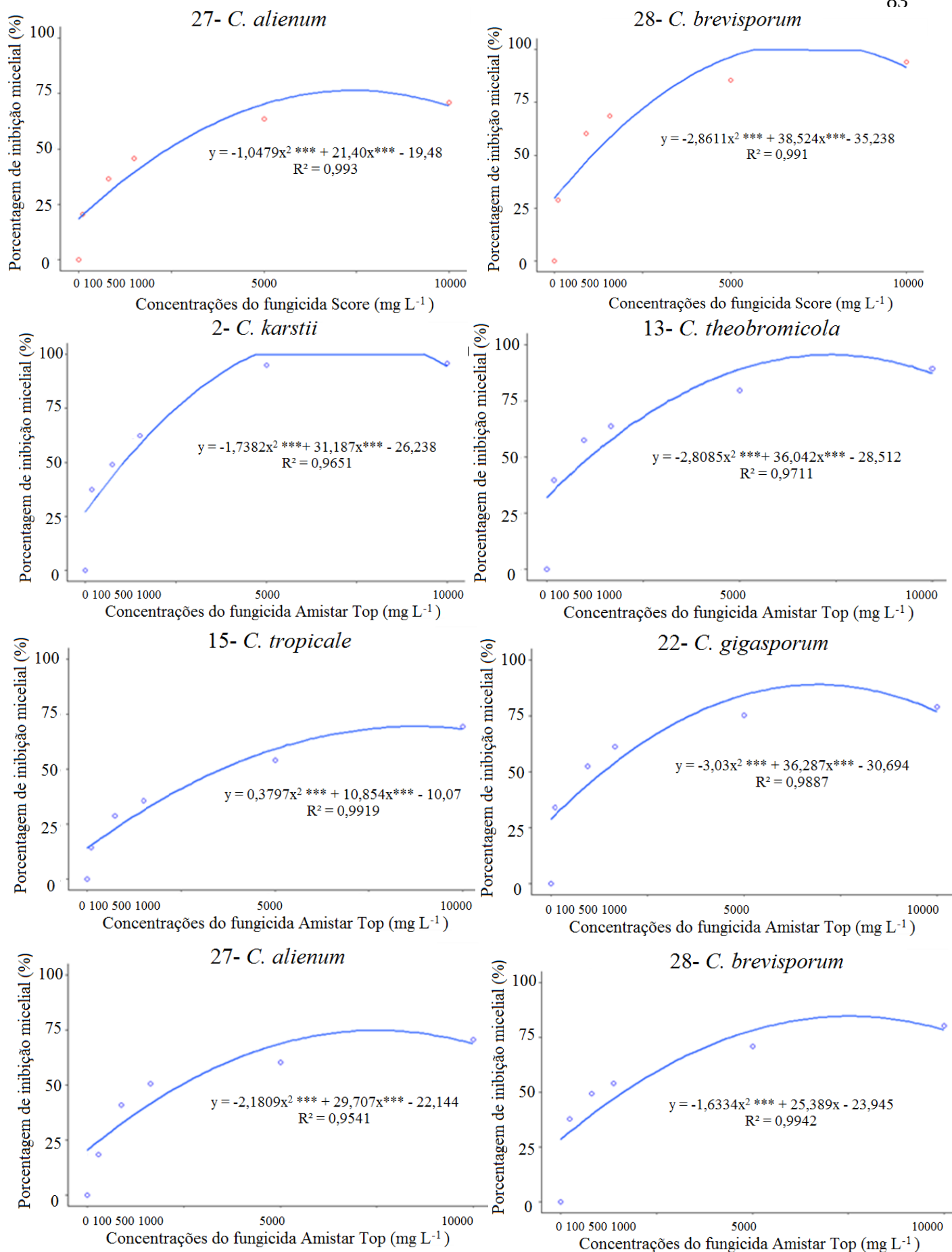


Figura 8. Porcentagem de inibição dos fungicidas Score e Amistar Top sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* spp.

***P < 0,05, teste Anova.

5.3.2. Determinação da melhor concentração inibitória efetiva dos fungicidas

A maior inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. foi obtida com a concentração de 10000 mg L⁻¹ dos fungicidas Score e Amistar Top. Para o fungicida Score a maior concentração avaliada inibiu 100,00; 93,99; 87,36; 87,19; 85,94 e 70,81% das espécies 13-*C. theobromicola*; 28-*C. brevisporum*; 15-*C. tropicale*; 2-*C. karstii*; 22-*C. gigasporum* e 27-*C. alienum*, respectivamente. Já para o fungicida Amistar Top, a maior concentração do estudo apresentou menores resultados de inibição, 95,94; 89,43; 80,20; 78,99; 70,63 e 69,43% das espécies 2-*C. karstii*; 13-*C. theobromicola*; 28-*C. brevisporum*; 22-*C. gigasporum*; 27-*C. alienum* e 15-*C. tropicale*, respectivamente. As demais concentrações (1, 10, 100 e 500 mg L⁻¹) apresentaram menor eficiência na atividade antifúngica. Abaixo, tem-se a melhor concentração inibitória efetiva observada (CIEobs= 10000 mg L⁻¹ ; Tabela 1) para os dois fungicidas e *Colletotrichum* spp.

Tabela 5. Determinação da melhor concentração inibitória efetiva dos fungicidas Score e Amistar Top no controle de *Colletotrichum* spp. e médias da inibição de crescimento micelial (% ± DP) nas distintas concentrações dos fungicidas e das testemunhas.

FUNGICIDA SCORE						
Concentrações mg L ⁻¹	Médias ± Desvio Padrão					
	2- <i>C. karstii</i>	13- <i>C. theobromicola</i>	15- <i>C. tropicale</i>	22- <i>C. gigasporum</i>	27- <i>C. alienum</i>	28- <i>C. brevisporum</i>
0	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a
100	43,39 ± 10,51b	29,55 ± 12,06b	20,80 ± 12,92b	31,34 ± 7,12b	20,59 ± 11,40b	28,92 ± 10,67b
500	64,76 ± 3,24c	48,73 ± 11,20c	41,93 ± 7,81c	47,23 ± 2,11c	36,49 ± 7,34c	60,37 ± 4,60c
1000	67,71 ± 3,45c	58,62 ± 5,99c	48,31 ± 6,93c	56,44 ± 3,16d	45,64 ± 4,05c	68,61 ± 4,02c
5000	81,74 ± 1,20d	77,78 ± 5,72d	75,38 ± 4,65d	74,49 ± 2,42e	63,64 ± 3,52d	85,31 ± 3,53d
10000	87,19 ± 1,96d ¹	100,00 ± 0,00e ¹	87,36 ± 8,81d ¹	85,94 ± 2,68f ¹	70,81 ± 4,00d ¹	93,99 ± 2,20d ¹

FUNGICIDA AMISTAR TOP						
Concentrações mg L ⁻¹	Médias ± Desvio Padrão					
	2- <i>C. karstii</i>	13- <i>C. theobromicola</i>	15- <i>C. tropicale</i>	22- <i>C. gigasporum</i>	27- <i>C. alienum</i>	28- <i>C. brevisporum</i>
0	0,00 ± 0a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a	0,00 ± 0,00a
100	37,33 ± 3,76b	39,77 ± 8,19b	14,27 ± 19,72a	34,03 ± 11,44b	18,44 ± 21,65a	37,73 ± 14,86b
500	48,86 ± 3,62c	57,55 ± 3,62c	28,83 ± 14,12a	52,44 ± 9,52c	40,94 ± 7,68a	49,47 ± 9,10b
1000	62,37 ± 5,23d	63,65 ± 5,88c	35,60 ± 10,81a	61,37 ± 7,39c	50,52 ± 15,91a	54,13 ± 7,01b
5000	94,81 ± 0,88e	79,82 ± 1,33d	53,93 ± 15,00a	75,31 ± 6,41c	60,34 ± 5,09a	70,99 ± 5,56c
10000	95,94 ± 0,92e ¹	89,43 ± 7,70d ¹	69,43 ± 9,84a ¹	78,99 ± 4,43c ¹	70,63 ± 3,20a ¹	80,20 ± 2,49c ¹

¹ Melhor Concentração inibitória efetiva de crescimento micelial.

* Letras iguais, na coluna, não apresentam diferença significativa de acordo como teste Tukey.

5.3.3. Índice de velocidade do crescimento micelial

A redução do IVCM foi observada com o aumento das concentrações dos fungicidas Score e Amistar top, até ocorrer o menor crescimento das seis espécies de *Colletotrichum* spp. Verificou-se diferença entre controle negativo e as concentrações 100, 500, 1000; 5000 e 10000 mg L⁻¹ dos produtos em relação as distintas espécies de *Colletotrichum*.

Para o fungicida Score o controle negativo (0,0%) apresentou a maior velocidade do crescimento micelial 1,07; 0,90; 0,90; 0,89; 0,86 e 0,79 cm dia⁻¹, seguido das concentrações 100, 500, 1000 e 5000 mg L⁻¹ para 28-*C. brevisporum*; 15-*C. tropicale*; 13-*C. theobromicola*; 22-*C. gigasporum*; 2-*C. karstii* e 27-*C. alienum*, respectivamente. A menor velocidade de crescimento 0,00 cm dia⁻¹ foi obtida na espécie 13-*C. theobromicola*, seguido de 0,06; 0,11; 0,11; 0,12 e 0,23 cm dia⁻¹ das espécies 28-*C. brevisporum*; 2-*C. karstii*; 15-*C. tropicale*; 22-*C. gigasporum* e 27-*C. alienum*, respectivamente (Figura 9).

Em relação ao fungicida Amistar Top, o controle negativo (0,0%) também apresentou a maior velocidade do crescimento micelial 1,13; 1,00; 0,97; 0,93; 0,90 e 0,74 cm dia⁻¹, seguido das concentrações 100, 500, 1000 e 5000 mg L⁻¹ para 13-*C. theobromicola*; 28-*C. brevisporum*; 22-*C. gigasporum*; 27-*C. alienum*; 15-*C. tropicale* e 2-*C. karstii*, respectivamente. A menor velocidade de crescimento 0,04 cm dia⁻¹ foi obtida na espécie 2-*C. karstii*, seguido de 0,23; 0,23; 0,28; 0,37 e 0,40 cm dia⁻¹ das espécies 22-*C. gigasporum*; 13-*C. theobromicola*; 28-*C. brevisporum*; 27-*C. alienum* e 15-*C. tropicale*, respectivamente (Figura 10).

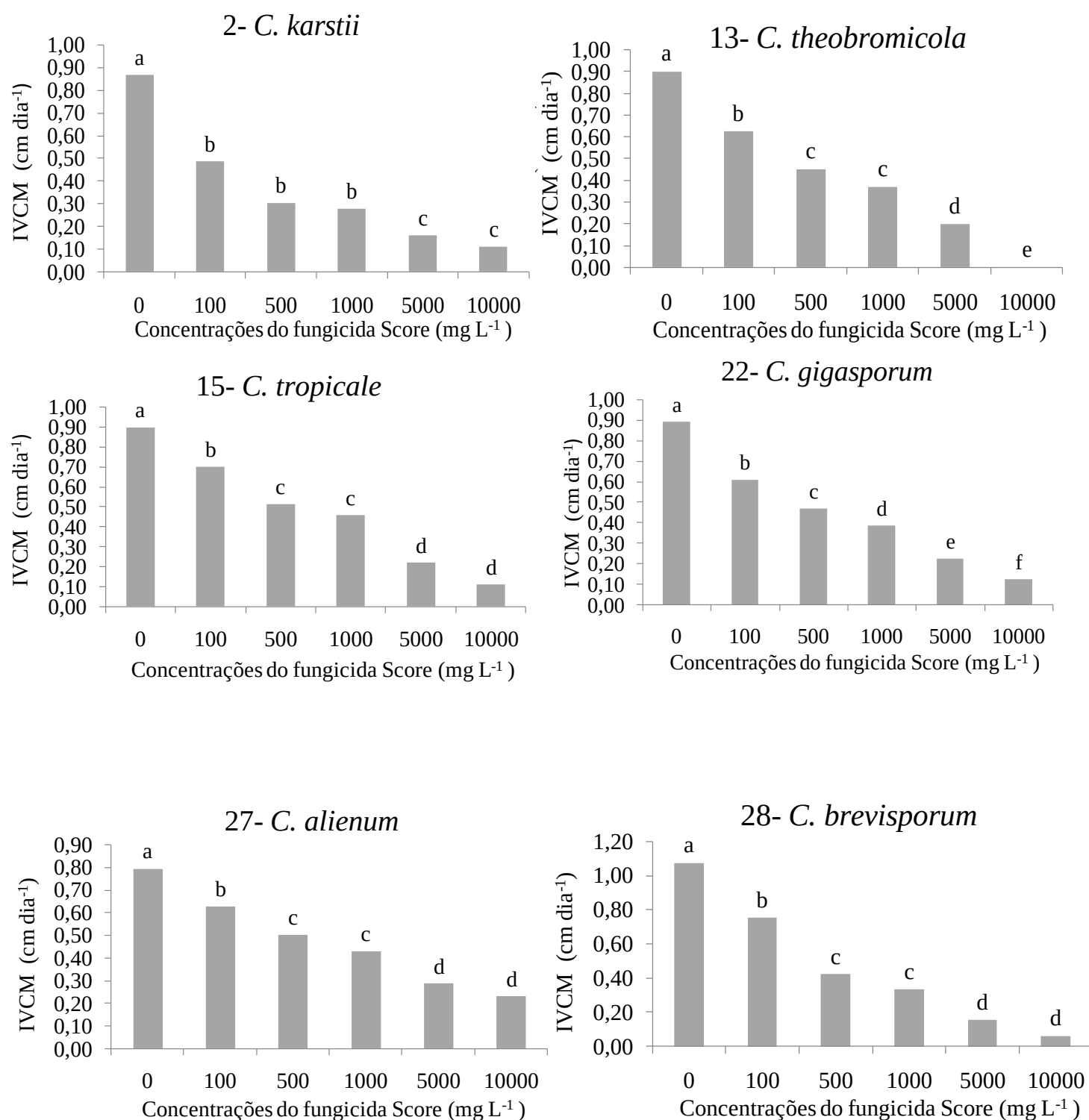


Figura 9 - Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Score e tratamentos de controle.

* Letras iguais não diferem pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

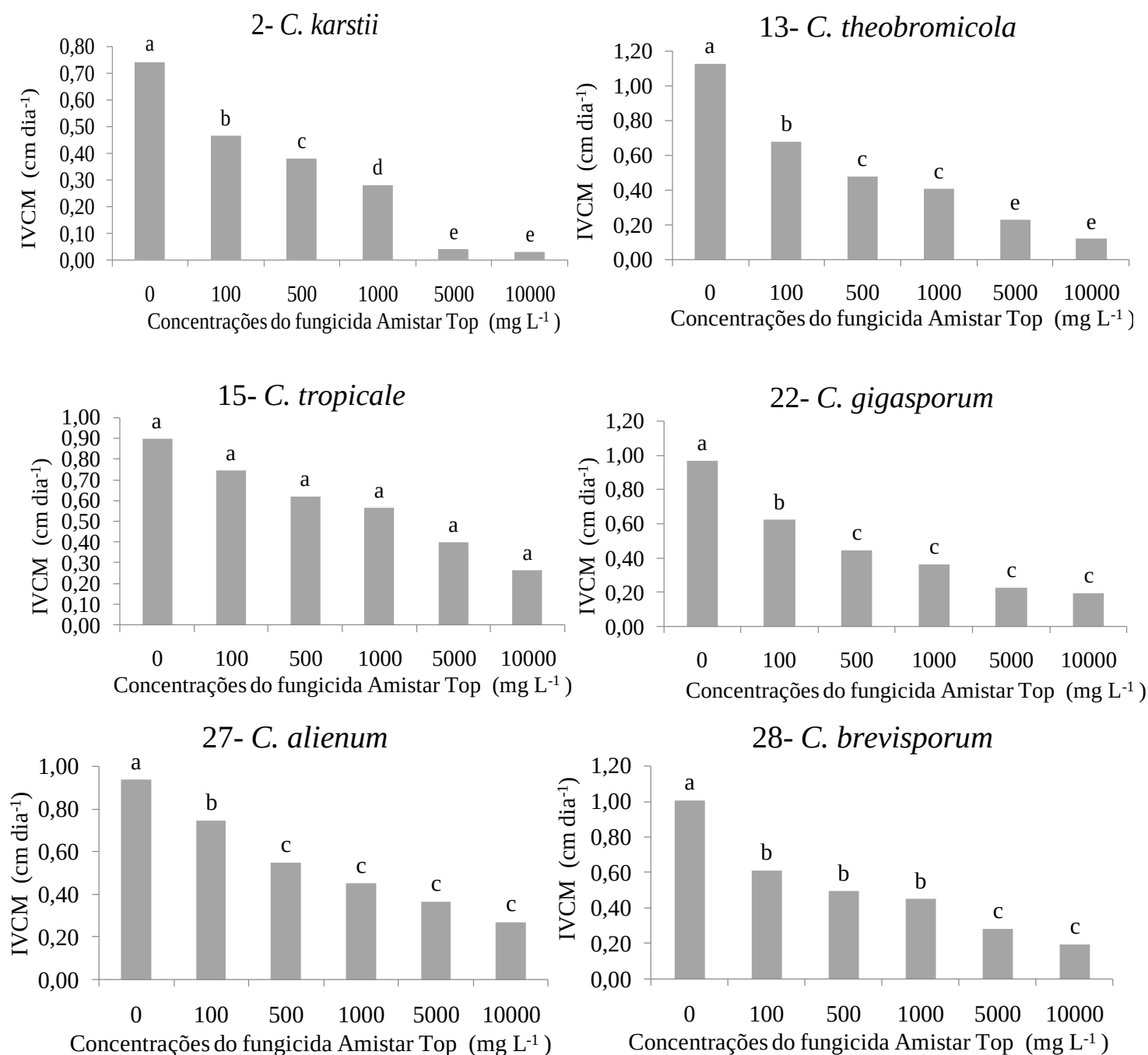


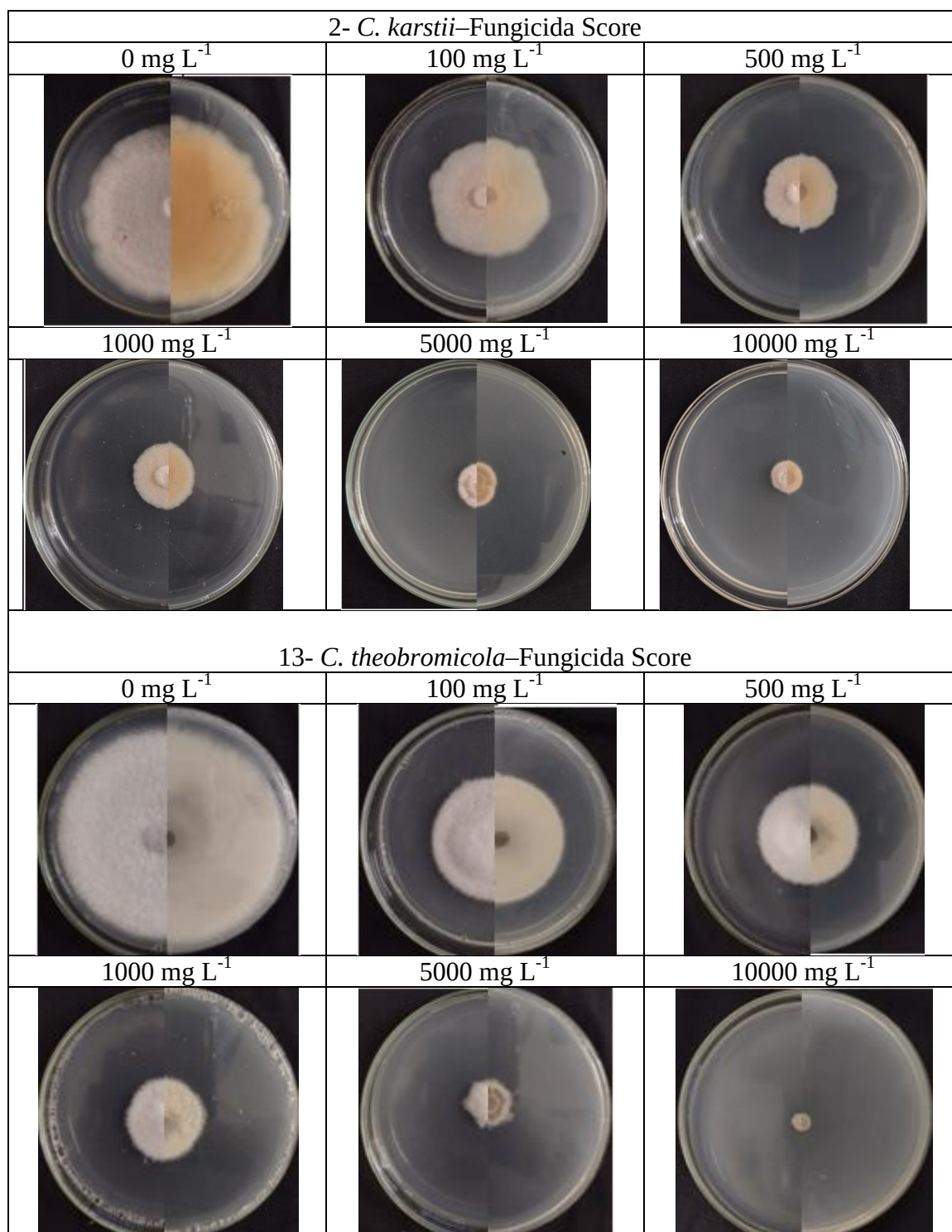
Figura 10 - Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Amistar Top e tratamentos de controle.

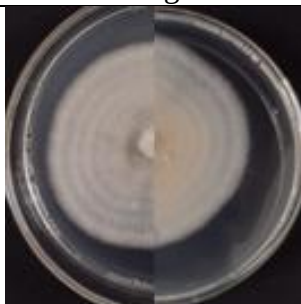
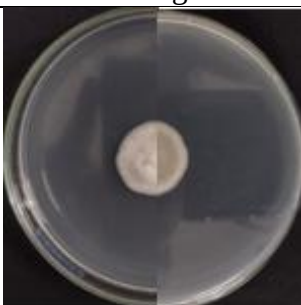
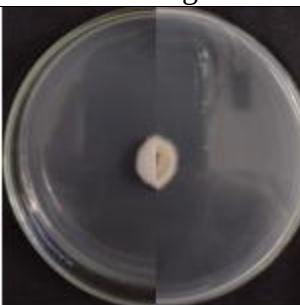
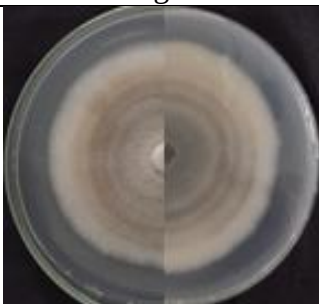
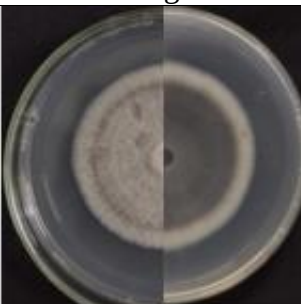
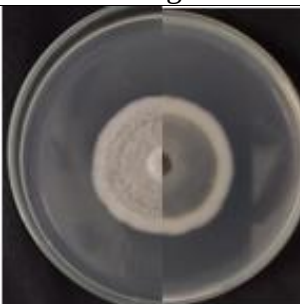
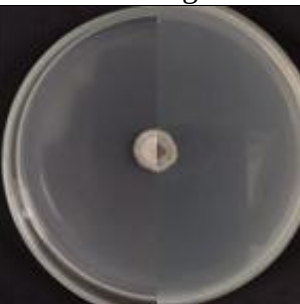
* Letras iguais não diferem pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

5.3.4. Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações dos fungicidas

Para entender a sensibilidade das seis espécies de *Colletotrichum* comparou-se o efeito inibitório de dois fungicidas comerciais registrados para plantas ornamentais, devido não ter nenhum produto registrado especificamente para a cultura da Helicônia. Constatou-se que na maior concentração 10000 mg L⁻¹ dos produtos Score e Amistar Top ocorreram

diferenças entre as porcentagens de inibição. Para o fungicida Score a espécie 27-*C. alienum* foi a mais resistente obtendo a menor inibição 70,81% e 13-*C. theobromicola* apresentou a maior sensibilidade, não obtendo crescimento nenhum (Figura 12). Em relação ao Amistar top, 15-*C. tropicale* foi considerada a espécie mais resistente apresentando menor inibição com 69,43% enquanto 2-*C. karstii* apresentou a maior sensibilidade obtendo 95,94% de inibição no crescimento micelial (Figura 13).



15- <i>C. tropicale</i> –Fungicida Score					
0 mg L ⁻¹		100 mg L ⁻¹		500 mg L ⁻¹	
					
1000 mg L ⁻¹		5000 mg L ⁻¹		10000 mg L ⁻¹	
					
22- <i>C. gigasporum</i> –Fungicida Score					
0 mg L ⁻¹		100 mg L ⁻¹		500 mg L ⁻¹	
					
1000 mg L ⁻¹		5000 mg L ⁻¹		10000 mg L ⁻¹	
					

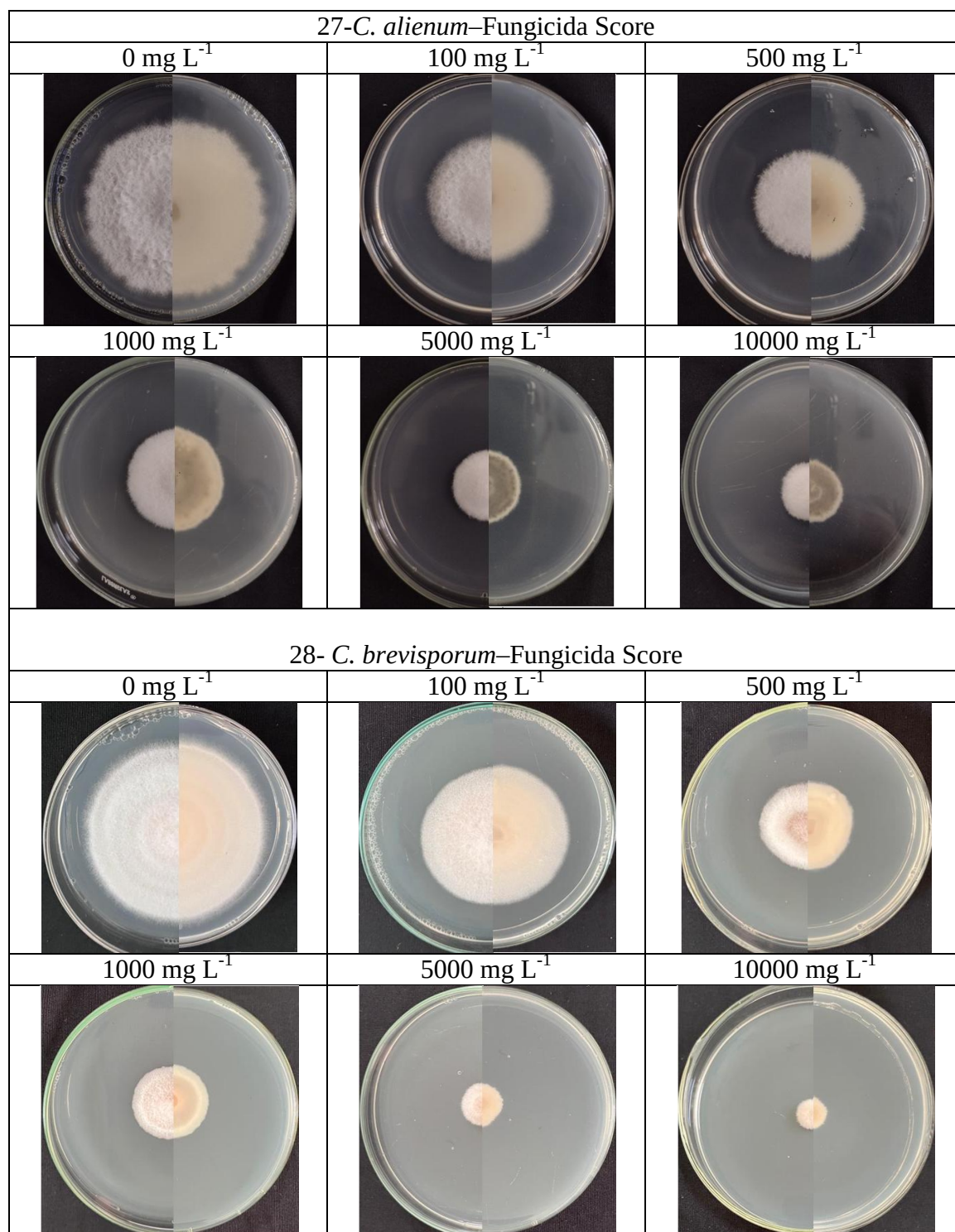
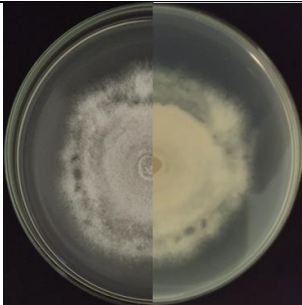
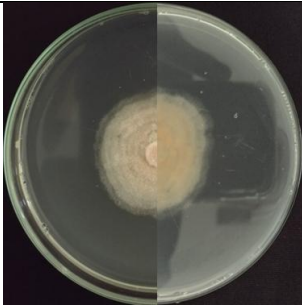
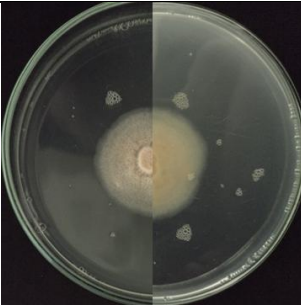
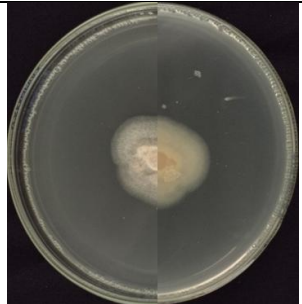
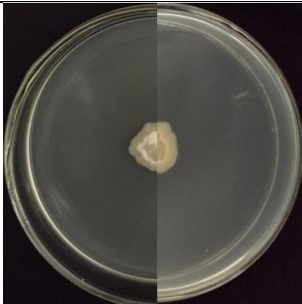
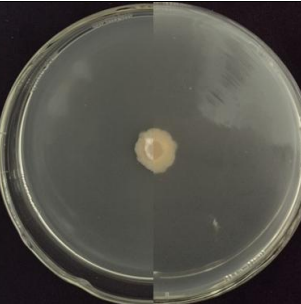
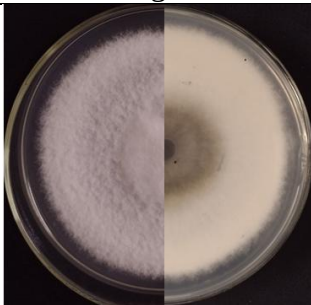
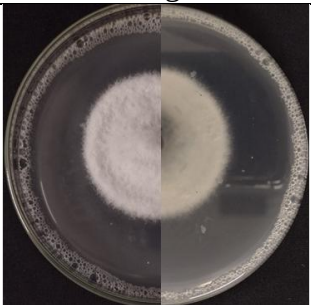
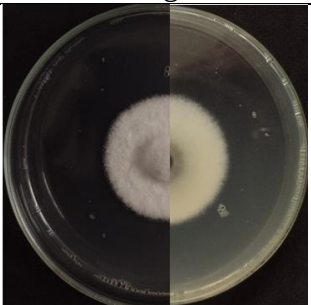
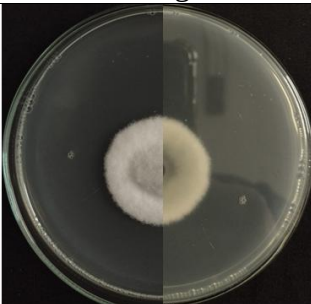
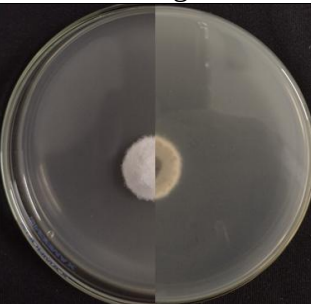
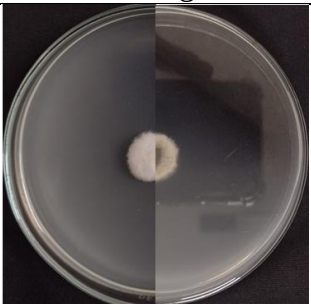
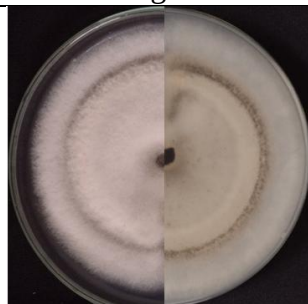
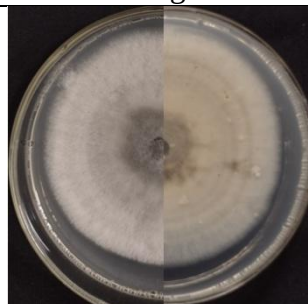
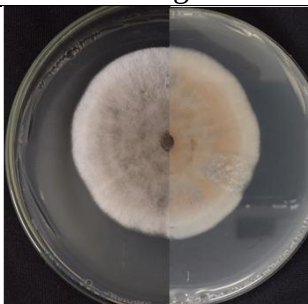
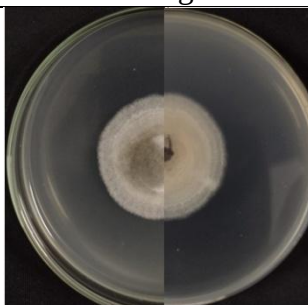
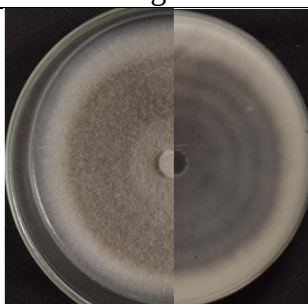
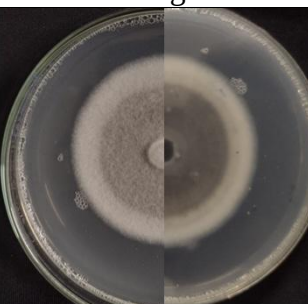
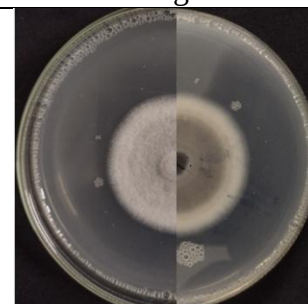
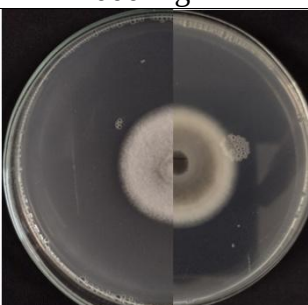
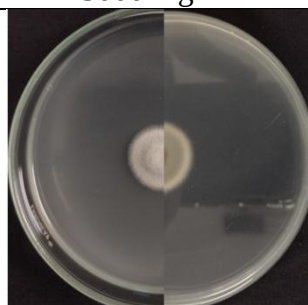
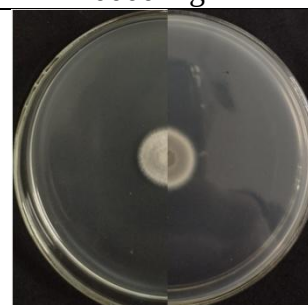


Figura 11 – Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Score e tratamentos de controle em placas de Petri, lado esquerdo frente e lado direito verso.

2- <i>C. karstii</i> –Fungicida Amistar Top					
0 mg L ⁻¹		100 mg L ⁻¹		500 mg L ⁻¹	
					
1000 mg L ⁻¹		5000 mg L ⁻¹		10000 mg L ⁻¹	
					
13- <i>C. theobromicola</i> –Fungicida Amistar Top					
0 mg L ⁻¹		100 mg L ⁻¹		500 mg L ⁻¹	
					
1000 mg L ⁻¹		5000 mg L ⁻¹		10000 mg L ⁻¹	
					

15- <i>C. tropicale</i> –Fungicida Amistar Top					
0 mg L ⁻¹		100 mg L ⁻¹		500 mg L ⁻¹	
					
1000 mg L ⁻¹		5000 mg L ⁻¹		10000 mg L ⁻¹	
					
22- <i>C. gigasporum</i> –Fungicida Amistar Top					
0 mg L ⁻¹		100 mg L ⁻¹		500 mg L ⁻¹	
					
1000 mg L ⁻¹		5000 mg L ⁻¹		10000 mg L ⁻¹	
					

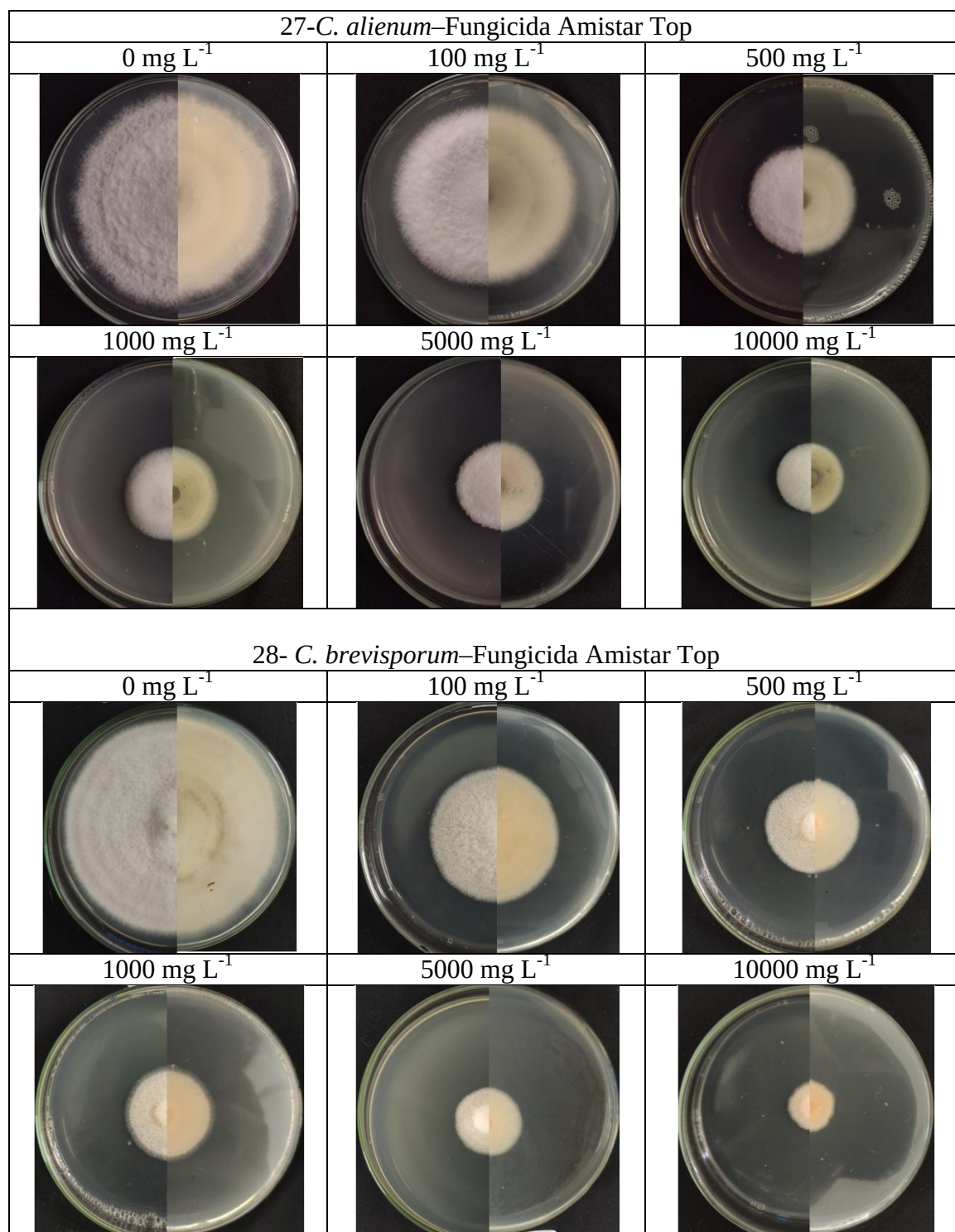


Figura 12– Sensibilidade de *Colletotrichum* spp. nas diferentes concentrações do fungicida Amistar Top e tratamentos de controle em placas de Petri, lado esquerdo frente e lado direito verso.

5.4. DISCUSSÃO

Os experimentos empregando fungicidas e concentrações distintas foram realizados para avaliar a sensibilidade de cada isolado de *Colletotrichum*. Vale ressaltar que até o momento não existem produtos registrados para o controle da Antracnose especificamente na cultura da Helicônia na plataforma Agrofit, não aparece sequer o nome da cultura (AGROFIT, 2023).

Na literatura científica há uma escassez em relação ao controle da antracnose na cultura, apenas recomendações em alguns estudos. Lamas (2007) recomenda o emprego da calda bordalesa, calda sulfocálcica e pulverizações com fungicidas sistêmicos e de contato, relatando que os melhores resultados são obtidos com produtos à base de Mancozeb na dosagem de 2 g/litro de solução com intervalo de 21 dias. Sosof et al. (2006) relataram que a aplicação de fungicidas como Ronilan, Rovral e composto cúprico como o Python-20 foram aprovados para o uso de flores e são eficazes para o controle de doenças. No processo pós-colheita, Mosca et al. (2005) recomendaram que o tratamento com fungicida seja realizado com imersão da haste completa, por um minuto, em solução de captan (1g/L) e azodrin (1mL/L), exceto em helicônias que não podem ter as inflorescências imersas.

Nesses estudos que recomendam o controle químico da doença causado por fungos do gênero *Colletotrichum*, somente as espécies *C. gloeosporioides* (LAMAS, 2007) e *C. musae* (SOSOF et al., 2006) foram relatadas ocorrendo na cultura da helicônia. No entanto, as espécies de *Colletotrichum* possuem comportamento diferenciado em relação aos diferentes fungicidas, podendo este conhecimento ser aplicado para auxiliar e direcionar a escolha dos ingredientes ativos mais eficientes para o controle da antracnose (LIMA et al., 2015).

Sendo assim, por não possuir nenhum produto específico para as Helicônias, foram testados fungicidas registrados para controle da doença antracnose abrangendo de forma geral às plantas ornamentais na consulta, que possuem oito produtos registrados, de grupos químicos distintos, como: Estrobilurina; Isoftalonitrila e Triazol, além de misturas empregando Carboxamida + Estrobilurina e Estrobilurina + Triazol (AGROFIT, 2023). No presente estudo foi utilizado um fungicida do grupo químico Triazol, e outro produto a base de Estrobilurina + Triazol.

O defensivo utilizado do grupo químico Triazol, foi o produto comercial Score, constituído do ingrediente ativo Difenconazol, obtendo a concentração de 250 g/L do I.A, com tipo de formulação Concentrado Emulsionável (EC) (AGROFIT, 2023). Inserido na classe de fungicidas sistêmicos, sendo extremamente tóxico, com ação preventiva e curativa

agindo também como antiesporulante dos fungos, evitando ainda a penetração dos haustórios (SCORE-ADAPAR, 2023; SCORE- SYNGENTA, 2023). Seu modo de ação atua interferindo a biossíntese de esteróis na membrana celular (SCORE- SYNGENTA, 2023).

Já o produto comercial Amistar Top é um fungicida sistêmico à base dos ingredientes ativos Azoxistrobina e Difenconazol com as concentrações 200g/Le 125g/L, respectivamente, pertencem aos grupos químicos Estrobilurina + Triazol, com tipo de formulação mediante Suspensão Concentrada (SC) (AGROFIT, 2023). O produto é considerado eficaz no controle de diversas doenças das culturas de hortifrúti, como antracnose, oídio, ferrugem, míldio e manchas foliares. Possui atividade predominantemente preventiva, mas também ação curativa e antiesporulante. A Azoxistrobina presente em Amistar Top é responsável por inibir a respiração dos fungos, distribuindo-se por movimento translaminar nos tecidos das plantas. Já o Difenconazol inibe o crescimento dos fungos, protegendo as folhas em ambos os lados (AMISTAR TOP – SYNGENTA, 2023).

Em relação aos ingredientes ativos dos fungicidas estudados, vários autores utilizaram a Azoxistrobina e Difenconazol de forma eficiente no controle da doença Antracnose ocasionada por espécies distintas de *Colletotrichum* em diferentes culturas como: *C.truncatum* em Soja- *Glycinemax* L. (OLIVEIRA et al., 2021), *C. chrysophilum*, *C. fragariae*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides*, *C. queenslandicum*, *C. siamense* e *C. tropicale* em cajueiro – *Anacardium occidentale* L. (VELOSO et al., 2021; VELOSO et al., 2022), *C. asianum* , *C. dianesei* , *C. fructicola* , *C. karstii* e *C. tropicale* em mangueira - *Mangifera indica* L. (LIMA et al., 2015) e *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* em goiabeira – *Psidium guajava* L. (FISCHER et al., 2012).

5.4. CONCLUSÕES

Os fungicidas Score e Amistar Top foram capazes de controlar *in vitro* as espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em *Heliconia* spp.

Todas as espécies de *Colletotrichum* foram sensíveis aos ingredientes ativos, obtendo os maiores valores de sensibilidade na concentração de 10000 mgL⁻¹ dos fungicidas avaliados

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT/MAPA – SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: Janeiro de 2023.

AKI, A.; PEDROSA, J. M. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 8 n. 1/2, p. 13-23, 2002. <https://doi.org/10.14295/rbho.v8i1.304>.

AMISTAR TOP-SYNGENTA. **Fungicida Amistar Top**. Disponível em: <<https://portal.syngenta.com.br/produtos/amistartop/#:~:text=Amistar%20Top%20%C3%A9%20um%20fungicida,do%20algod%C3%A3o%2C%20feij%C3%A3o%20e%20hortifruti>>. Acesso: Janeiro de 2023.

AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; FILHO, A. B. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2018. 561p.

ATEHORTUA, L. **Aves Del Paraíso, Gingers, Heliconias**. Santa fé de Bogotá, D. C., Colômbia: HortiTecnia Ltda., 66 p. 1998.

BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelise* outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 441-3, 1997.

BEBBER, D. P.; GURR, S. J. Crop-destroying fungal and oomycete pathogens challenge food security. **Fungal Genetics and Biology**, v. 74, p. 62-64, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.10.012>.

DEAN, R.; KAN, J. A. L. V.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G. D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds, **Phytopathology**, Saint Paul, v. 61, p. 42-44, 1971. <https://doi.org/10.1094/Phyto-61-42>

- FISCHER, I. H.; SILVA, B. L.; SOARES, A. R.; ARRUDA, M. C.; PARISI, M. C. M.; AMORIM, L. Effect of fungicides and alternative products in control of anthracnose and black spot of guava. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 2753-2766, 2012. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Supl1p2753>
- JAYAWARDENA, R. S.; BHUNJUN, C. S.; HYDE, K. D.; GENTEKAKI, E. ITTHAYAKORN, P. *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. **Mycosphere**, v. 12, p. 519–669, 2021. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/12/1/7>.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Las exportaciones brasileñas de flores y plantas ornamentales crecieron más del 124% entre 2001 y 2006. **Horticultura Internacional**, v. 1, n. 56, p. 76-78, 2007.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014. <http://dx.doi.org/10.14295/rbho.v20i2.727>
- KRESS, J. The diversity and distribution of *Heliconia* (Heliconiaceae) in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 159-167, 1990. <https://doi.org/10.1590/S0102-33061990000100011>
- LAMAS, A. M. Controle de Pragas e Doenças em Floricultura Tropical - **Fitossanidade na Amazônia: inovações tecnológicas**, p. 143-160, 2007.
- LIMA, N. B.; LIMA, W. G.; TOVAR-PEDRAZA, J. M.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 4, p. 679-688, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-014-0570-y>
- LIU, F.; MA, Z. Y.; HOU, L. W.; DIAO, Y. Z.; WU, W. P.; DAMM, U.; SONG, S.; CAI, L. Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. **Studies in Mycology**, v. 101, p. 1–56, 2022. <https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.01>
- MARIANI, C. M.; HENKES, J. A. Agricultura orgânica x Agricultura convencional, soluções para minimizar o uso de insumos industrializados. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, v. 3, n. 2, p. 315-338, 2015. <https://doi.org/10.19177/rgsa.v3e22014315-338>

MENTEN, J. O. M.; MACHADO, C. C.; MINUSSI, E.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial da *Macrophomina phaseolina in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 1, p. 57-66, 1976.

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, R. A. Heliconiaceae. In: TERAPO, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; BARROSO, T. C. S. F. Flores tropicais: Tropical flowers. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 85-101. 2005.
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11779/1/FP09001.pdf>

MOSCA, J. L.; QUEIROZ, M. B.; ALMEIDA, A. S.; CAVALCANTE, R. A.; ALVES, R. E. Helicônia: Descrição, Colheita e Pós-Colheita. Embrapa Agroindústria Tropical, 1ª edição, 32 p., 2005. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/419441>

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitossanidade) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, p. 111, 1991.

OLIVEIRA, L. F.; BONALDO, S. M.; PEREIRA, C. S.; FIORINI, I. V. A.; BELUFI, L. M. R.; PITTELKOW, F. K. Programas de fungicidas no controle de antracnose na cultura da soja. **TECNO-LÓGICA**, v. 25, n. 2, p. 209-220, 2021.
<https://doi.org/10.17058/tecnolog.v25i2.16652>.

PINHEIRO, P. G. L.; LEITE, K. P.; LIRA JUNIOR, M. A.; LOGES, V.; CASTRO, M. F. A. *Heliconia* characteristics for landscape use. **Acta Horticulturae**, v. 953, p. 293-298, 2012.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.953.40>

R CORE STUDIO. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; 2022. Available: <https://www.R-project.org/>

SARDINHA, D. H. S.; RODRIGUES, A. A. C.; DINIZ, N. B.; LEMOS, R. N. S.; SILVA, G. S. Fungos e nematóides fitopatogênicos associados ao cultivo de flores tropicais em São Luís-MA. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 2, p. 159-162, 2012.
<https://doi.org/10.1590/S0100-54052012000200010>

SCORE-ADAPAR. **SCORE®** Disponível em:
<https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2020-10/score230719.pdf>. Acesso: Janeiro de 2023.

SCORE-SYNGENTA. **Fungicida Score.** Disponível em: <<https://www.syngenta.com.br/product/crop-protection/fungicida/score>>. Acesso: Janeiro de 2023.

SHEAHAN, M.; BARRETT, C. B.; GOLDSVALE, C. Human health and pesticide use in Sub-Saharan Africa. **Agricultural Economics**, v. 48, n. 51, p. 27-41, 2017. <https://doi.org/10.1111/agec.12384>.

SILVA, C. G.; NASCIMENTO, T. O.; SILVA, P. C.; DALBOSCO, E. Z.; HIEGA, K. M. R.; SILVA, C. A.; KRAUSE, W. Helicônia: a beleza da flora Mato-grossense. **Revista MT Horticultura**, v. 1, n. 1, p. 024-026, 2015b.

SOBRINHO, C. C. M.; BEZERRA, J. L.; SILVEIRA, A. J.; BITTENCOURT, M. A. L. Fitopatógenos associados às doenças de *Heliconia* spp., em cultivos comerciais no Litoral Sul da Bahia. **Agrotrópica**, v. 27, n. 1, p. 25 - 32. 2015. <http://dx.doi.org/10.21757/0103-3816.2015v27n1p25-32>

SOLOGUREN, F. J.; JULIATTI, F. C. Doenças fúngicas em plantas ornamentais em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, p. 45-52, 2007.

SOSOF, V.; ALVARADO, G. J. R.; SÁNCHEZ, C. D. Y MARTÍN, S. Estudio de La variabilidad de cultivares nativos de flores del género *Heliconia* (Heliconiaceae) provenientes de la región Suroccidental de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, 2006.

TAKESHITA, V.; OLIVEIRA, F. F.; WITT, F. A. P.; RIBEIRO, L. F. C. Efeito inibitório de extratos vegetais da Família *Allioideae* sobre *Guignardia citricarpa* - agente causal da mancha preta em *citrus*. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 10, n. 19, p. 906-919, 2014.

TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. **Fungal Diversity**, v. 110, p. 109–198, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00491-9>

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Natural Resources Conservation Service. **Classification for Kingdom Plantae Down to Genus *Heliconia* L.** Disponível em: <<https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=HELIC2>>. Acesso em: Junho de 2022.

VELOSO, J. S.; I. G. DUARTE; FARIAS, O. R.; CÂMARA, M. P. S. Antracnose do cajueiro: etiologia, sintomatologia e aspectos epidemiológicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 28, p. 200-215, 2022. <https://doi.org/10.31976/0104-038321v280009>

VELOSO, J. S.; LIMA, W. G.; REIS, A.; DOYLE, V. P.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S. Factors influencing biological traits and aggressiveness of *Colletotrichum* species associated with cashew Anthracnose in Brazil. **Plant Pathology**, v. 70, p. 167–180, 2021. <https://doi.org/10.1111/PPA.13276>