

Identificação de espécies de *Colletotrichum* associados à antracnose em plantas de atemóia e colonização do fungo nos frutos

Ana Carolina Firmino¹, Hugo José Tozze Junior², Bruno Rocha Tamelini¹, Denise Nakada Nosaki¹, Edson Luiz Furtado¹.

¹Departamento de Produção Vegetal/Defesa Fitossanitária, UNESP/FCA, CEP 18610-307, Botucatu, SP, Brasil. ²Departamento de Fitopatologia e Nematologia, ESALQ/USP, Piracicaba SP, Brasil.

correspondência: Ana Carolina Firmino (anacarfir@gmail.com)

Data de chegada: 25/11/2013. Aceito para publicação em: 29/09/2014.

10.1590/0100-5405/1955

RESUMO

Firmino, A.C.; Tozze Junior, H.J.; Tamelini, B.R.; Nosaki, D.N.; Furtado, E.L. Identificação de espécies de *Colletotrichum* associados à antracnose em plantas de atemóia e colonização do fungo nos frutos. *Summa Phytopathologica*, v.40, n.4, p.323-328, 2014.

A atemóia é um híbrido *Annona cherimola* com *A. squamosa*. A antracnose, causada por *Colletotrichum* sp., é uma importante doença da atemóia, causando danos em diferentes órgãos da planta, destacando aqueles causados nos frutos, tanto na pré como na pós-colheita. Diante deste problema, o presente trabalho teve como objetivo realizar a identificação de espécies de *Colletotrichum* associados à antracnose em plantas de atemóia através do sequenciamento de diferentes regiões do DNA deste fungo e acompanhar as etapas de colonização de frutos de atemóia por este fungo através de microscopia eletrônica de varredura.

Após extração de DNA, foi realizado o sequenciamento dos genes da β -tubulina e α -elongase e da região do ITS-5.8S rDNA do DNA dos fungos. Das 15 amostras sequenciadas seis foram identificadas como *Colletotrichum acutatum* e as outras foram identificadas como *C. boninense*. A espécie *C. acutatum* foi encontrada somente em amostras obtidas de folhas de atemóia, enquanto que a espécie *C. boninense* foi identificada de amostras obtidas de frutos, ramos e folhas doentes. Todas as etapas da doença ocorreram nas 48 horas, sendo que foi observada a germinação dos esporos entre duas e quatro horas após a inoculação

Palavras-chave adicionais: antracnose, *Annona*, espécies

ABSTRACT

Firmino, A.C.; Tozze Junior, H.J.; Tamelini, B.R.; Nosaki, D.N.; Furtado, E.L. Identification of *Colletotrichum* species associated with anthracnose in atemoya plants and fungal colonization in the fruits. *Summa Phytopathologica*, v.40, n.4, p.323-328, 2014.

Atemoya is a hybrid fruit of *Annona cherimola* and *A. squamosa*. Anthracnose, caused by *Colletotrichum* sp., is an important disease affecting atemoya, causing damage to different organs, especially fruits, both in the pre and in the post harvest. In view of this problem, the present paper aims to identify *Colletotrichum* species associated with anthracnose in atemoya plants by sequencing DNA from different regions of this fungus and monitoring the steps of colonization by this fungus in atemoya fruits through Scanning Electron Microscopy. After DNA extraction, the genes from the fungus DNA

β -tubulina and α -elongase and the regions ITS-5.8S rDNA were sequenced. Of the 15 sequenced samples, six were identified as *Colletotrichum acutatum* and others were identified as *C. boninense*. The species *C. acutatum* was found only in samples obtained from leaves of atemoya. The species *C. boninense* had widespread occurrence and was identified in samples obtained from diseased fruits, branches and leaves. All stages of the disease occurred within 48 hours, and spore germination was observed between two and four hours after inoculation.

Additional keywords: anthracnose, *Annona*, species

A atemóia é um híbrido interespecífico entre a *Annona cherimola* Mill. e *A. squamosa* L., que dentre as espécies frutíferas exploradas em larga escala, talvez seja a de mais recente introdução de cultivo no Brasil, cuja a introdução ocorreu em meados da década de 1980 (16). Segundo Pereira e Kavati (16) considerando que a fruta de atemóia foi recentemente lançada no mercado, sendo ofertada somente nos anos 90 nos mercados de São Paulo, o volume comercializado é bastante significativo, sendo que, na maior central de abastecimento do País, Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (Ceagesp), são atualmente comercializadas cerca de duas mil toneladas anuais.

Dados da CEAGESP indicam que mais de 88% das atemóias comercializadas no Brasil são feitas no Entrepósito situado em São Paulo, enquanto, no mesmo período, a participação neste mercado da

fruta-do-conde, que teoricamente ocupa a mesma faixa de consumo, atinge apenas 23,6% do total comercializado, indicando a potencialidade do crescimento que tem essa fruta no mercado brasileiro (16).

Atualmente um dos grandes problemas fitossanitários que vem causando perdas nesta cultura está sendo associados à antracnose. Esta doença é considerada uma das mais importantes doenças da atemóia no Brasil por causar danos em pré e pós colheita. Os sintomas desta doença variam de antracnose foliar, abortamento de flores, queima de ponta de ramos e lesões necróticas nos frutos (19).

Apenas *Colletotrichum gloeosporoides* é citado como agente causal da antracnose da atemóia no país (19). Entretanto, é comum que mais de uma espécie deste patógeno cause antracnose em um mesmo hospedeiro, a exemplo do que ocorre com o abacateiro e com

o maracujazeiro, que, em alguns países, podem ser causadas por *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *C. boninense* (8; 1; 22).

O número de espécies desde os primeiros trabalhos realizados com este fungo foi aumentou à medida que os estudos sobre morfologia, características culturais e patogenicidade, foram aprofundados (4). Na revisão do gênero realizada por Sutton (18) 22 espécies foram propostas, passando para 39 espécies na atualização realizada pelo mesmo autor em 1992. Apesar desses estudos terem sido baseados em métodos tradicionais, sabe-se que espécies de *Colletotrichum* apresentam alta variabilidade fenotípica, o que torna tais métodos limitados para a correta identificação específica.

A análise de seqüências de ácidos nucleicos tem sido considerada a técnica mais confiável para a classificação de espécies deste gênero (5; 6; 17; 3). Dentre as regiões do genoma estudadas para *Colletotrichum*, a ITS é a que possui maior número de seqüências depositadas, sendo considerada útil para a identificação preliminar de espécie ou para colocá-lo em um complexo de espécie (3). Recentemente, várias regiões do genoma de fungos do gênero *Colletotrichum* têm sido analisadas em conjunto com o ITS, entre as quais a β -tubulina, Calmodulina, Glutamina sintetase, Actina e Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (17).

Os avanços nos estudos moleculares têm permitido a descrição de novas espécies de *Colletotrichum*. Na edição de 2008 do Dictionary of the Fungi 60 espécies do gênero foram sugeridas (11). Posteriormente, Hyde e colaboradores (9) sugeriu 66 espécies de deste patógeno.

Atualmente as espécies de *Colletotrichum* são organizadas em complexos. O complexo *C. acutatum* contém mais de 29 espécies estreitamente relacionadas, o complexo *C. gloeosporioides* compreende mais 22 espécies e o complexo *C. boninense* tem mais 18 espécies relacionadas (7, 25).

Devido às diferenças que ocorrem entre espécies de *Colletotrichum*, é fundamental a realização de estudos voltados à identificação específica dos agentes causais da antracnose de um dado hospedeiro. Essas informações são essenciais para o desenvolvimento de métodos de controle, seja químico, genético ou cultural, os quais tornam possível o manejo adequado da doença (23).

Com base nos poucos estudos de identificação de espécies *Colletotrichum* causadores de doença em anonáceas, o presente trabalho teve como objetivo identificar molecularmente espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em plantas de atemóia na região de Botucatu, Estado de São Paulo, e estudar a colonização de um isolado em frutos de atemóia.

MATERIAL E MÉTODO

Obtenção dos isolados

Os isolados de *Colletotrichum* foram obtidos de folhas, ramos e frutos de atemóia com sintomas de podridão típicos de antracnose coletados em propriedades comerciais produtoras da cultura, na região do município de Botucatu, Estado de São Paulo. Estes isolados estavam armazenados micoteca do laboratório de fungos de solo “Nilton Luiz de Souza”, localizado no Departamento de Proteção de Plantas, da Faculdade de Ciências Agrônomicas da UNESP de Botucatu (Tabela 1). Estes isolados foram coletados nos anos de 2007 e 2008.

O isolamento foi realizado diretamente, pela coleta de massa de esporos presente na lesão de antracnose e transferência para placas contendo meio de Aveia (4% de aveia, 1,5% agar, água), incubadas sob temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Após o desenvolvimento das colônias, culturas monospóricas de todos os

Tabela 1. Isolados de *Colletotrichum* spp. E as partes da planta de atemóia de onde foram isolados

Nome do isolado	Parte da planta em que foi coletado
ATE1	Folha
ATE2	Folha
	Folha
ATE3	Folha
ATE4	Folha
ATE5	Folha
ATE6	Folha
ATE7	Fruto
ATE8	Fruto
ATE9	Ramo
ATE10	Ramo
ATE11	Folha
ATE12	Folha
ATE13	Fruto
ATE14	Folha
ATE15	Fruto

isolados foram obtidas, as quais foram utilizadas para execução dos experimentos.

Caracterização Molecular

A extração de DNA dos isolados coletados foi realizada conforme o método desenvolvido por Murray e Thompson (15).

A região ITS-5.8S rDNA foi amplificada com os pares de oligonucleotídeos ITS 1 e ITS 4, que geram um fragmento de aproximadamente 750 pb. Para a PCR, empregaram-se 3 μL de DNA total extraído (30ng), tampão 1X da enzima GoTaq DNA polimerase (Promega®), 2mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0,2 μM de cada oligonucleotídeo na concentração e 1,25 U de GoTaq DNA polimerase (Promega®), ajustando o volume da reação para 50 μL com água tratada com DEPC. O regime de programa utilizado no termociclador foi: 94°C por 2 minutos, 35 ciclos de 94°C por 35 segundos, 52°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto, finalizando-se o processo com 72°C por 15 minutos.

A região do gene da β -tubulina foi amplificada com os oligonucleotídeos Bt2-F e Bt2-R, gerando um fragmento de aproximadamente 510 pb. Para o PCR relacionado com o gene da α -elongase foi usado os pares de primers EF1 e EF2, que geram um fragmento de aproximadamente 1300 pb. Para a realização das PCRs foram empregadas as mesmas concentrações de reagentes que foram utilizadas para amplificação da região ITS-5.8S rDNA. Porém, o regime de programa utilizado no termociclador foi: 94°C por 2 minutos, 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 54,3°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto, finalizando-se o processo com 72°C por 10 minutos.

Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados em gel de agarose corado com brometo de etídio e observados sob luz ultravioleta. Para seqüenciamento dos fragmentos amplificados, 100 μL do produto de PCR foi purificado com o Kit SV Gel and PCR Clean UP system (Promega®).

As seqüências de DNA obtidas foram alinhadas e editadas no programa Bioedit. As árvores filogenéticas foram processadas com o programa Mega 5.05 utilizando o método “jukes-cantor” (20) para a construção da matriz de distâncias, pelo método de Neighbor-Joining. Foi realizado um “bootstrap” com 10.000 replicações.

Acompanhamento da colonização

Frutos de atemóia foram lavados com sabão neutro e higienizados com solução de hipoclorito a 2% por 30 minutos. Após a higienização dos frutos estes foram secos em temperatura ambiente por mais de 12 horas. Logo após secagem completa dos frutos, estes foram colocados em bandejas de plásticos. Em cada fruto foram colocadas cinco gotas separadas de uma suspensão de esporos do isolado AT 7 (10^6 esporos mL⁻¹). Não foram realizados fermentos no fruto nesta inoculação.

Após a inoculação, as bandejas com os frutos foram mantidas no escuro, em câmara úmida a 25°C. Discos do fruto no local inoculado (cerca de 5 mm de diâmetro) foram coletados em intervalos de tempo pré-determinados (2, 4, 6, 12, 24 e 48 horas) e fixadas em solução de “Karnovsky” (glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2,0%, tampão fosfato 0,05M, pH 7,2), por um período mínimo de 24 horas, para

serem preparadas segundo protocolo utilizado no Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica na Agropecuária e analisadas ao microscópio eletrônico de varredura LEO435-VP, na ESALQ, USP. Cada fruto inoculado representou um tempo de coleta. Para cada coleta eram retirados cinco discos do fruto.

RESULTADO E DISCUSSÕES

Os resultados da identificação molecular foram similares em todas as regiões do DNA estudadas. Das 15 amostras seqüenciadas seis foram identificadas como *C. acutatum* e as outras foram identificadas como *C. boninense*. A espécie *C. acutatum* foi encontrada somente em amostras obtidas de folhas de atemóia, enquanto que a espécie *C. boninense* foi de ocorrência generalizada, sendo identificada nas amostras obtidas de

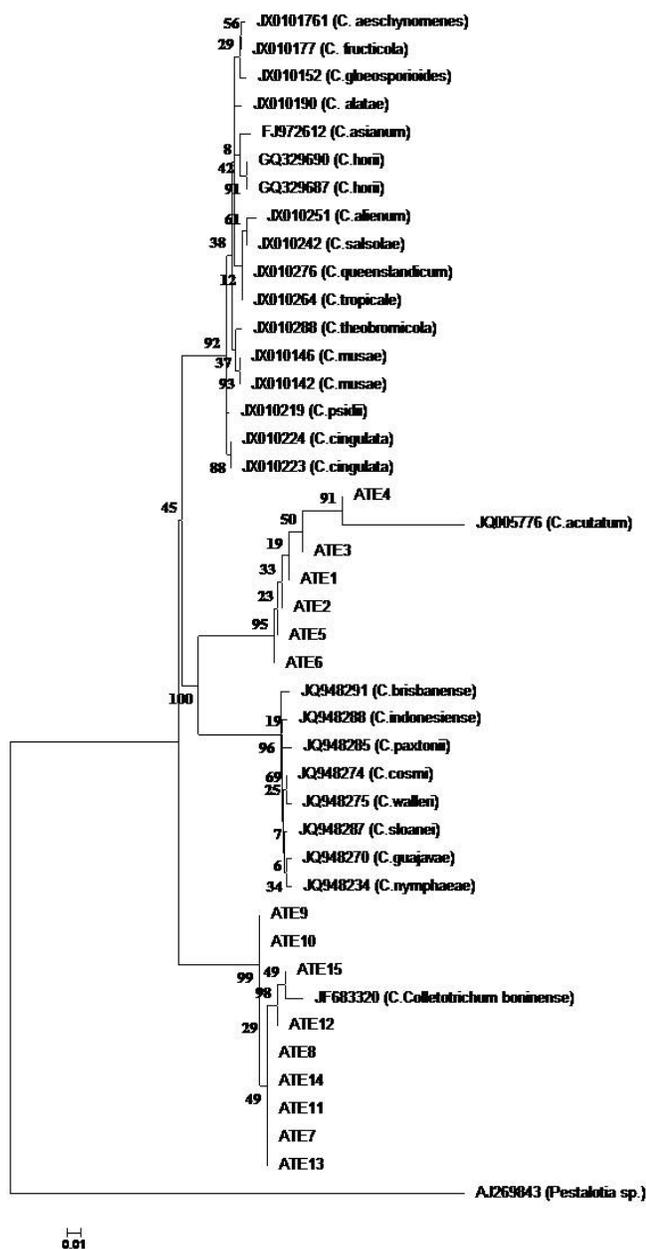


Figura 1. Árvore filogenética da região ITS-5.8S rDNA dos isolados *Colletotrichum* trabalhados.

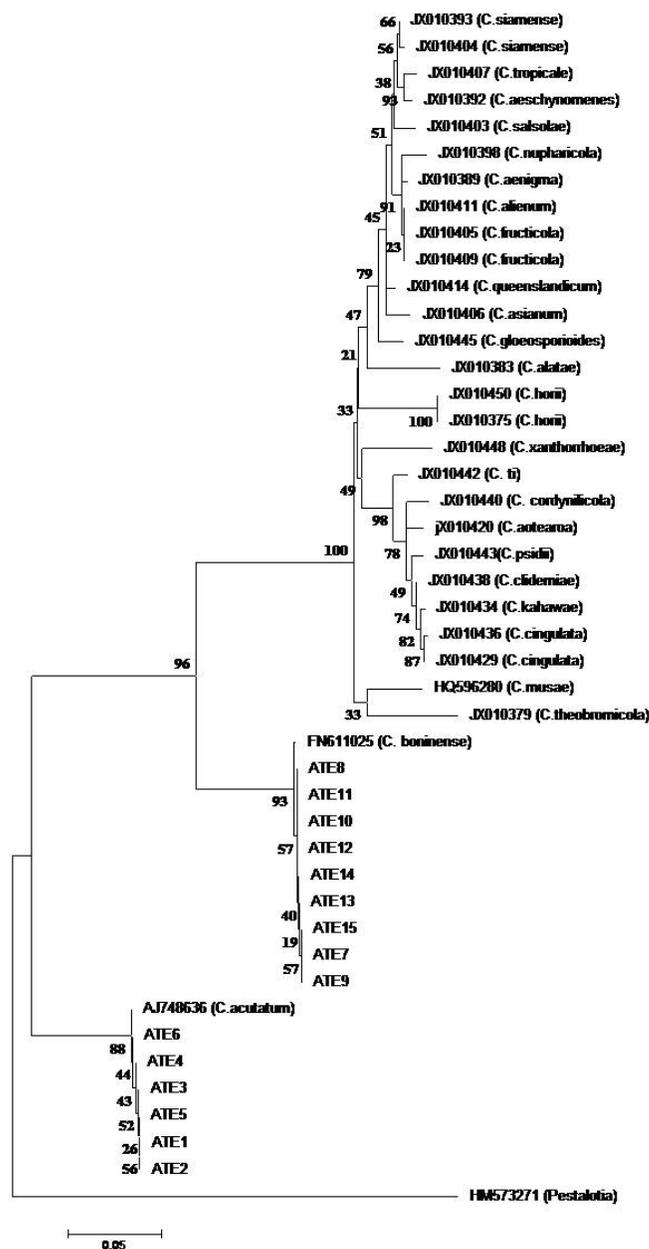


Figura 2. Árvore filogenética da região do gene da β -tubulina dos isolados *Colletotrichum* trabalhados.

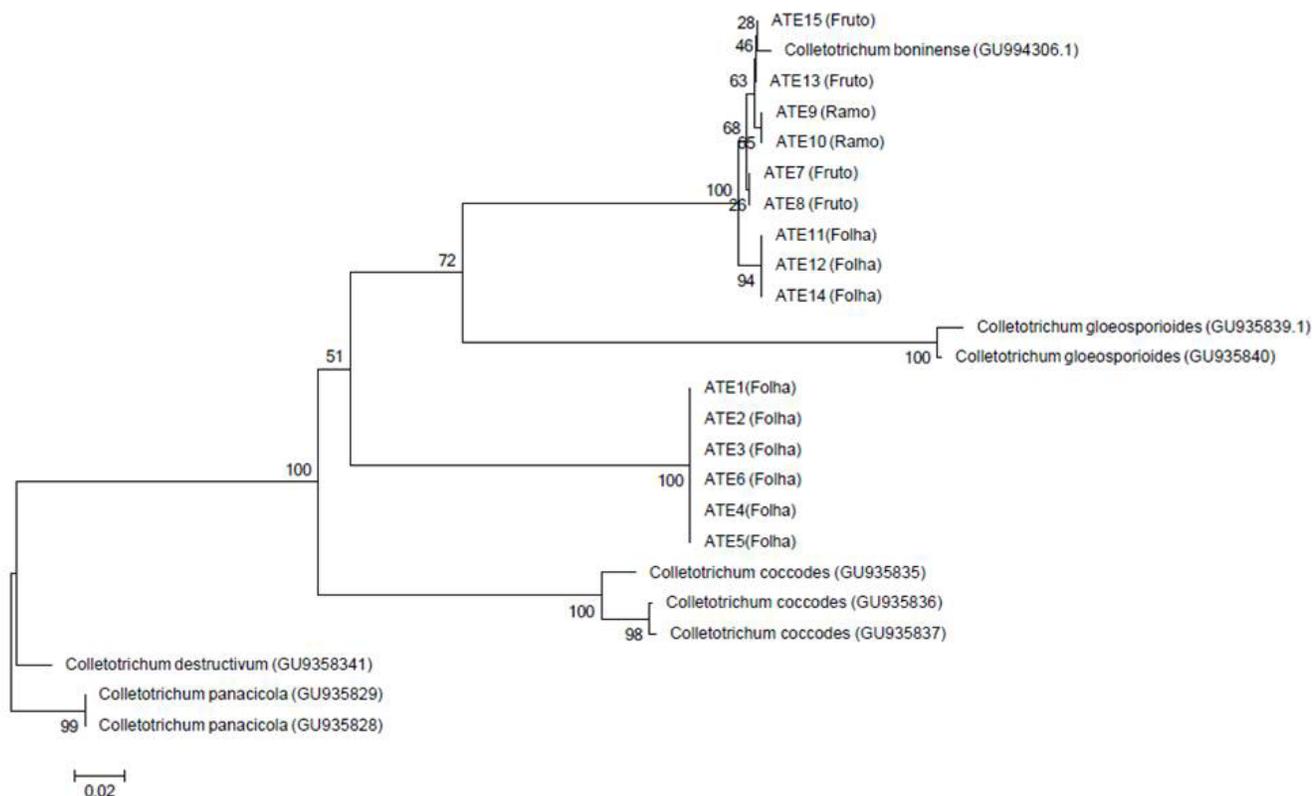


Figura 3. Árvore filogenética da região do gene da α -elongase com os isolados *Colletotrichum* trabalhados.

frutos, ramos e folhas doentes (Figuras 1, 2 e 3).

No Brasil, até o momento, somente *C. gloeosporioides* é relatado como causador de antracnose em atemóia (19). Esta espécie é reportada causando antracnose em anonáceas também no México, onde reportou-se incidências superiores a 50% deste fungo em frutos de cherimóia (24).

Estudos realizados por Kamei e colaboradores (10) apontam a ocorrência de mais de uma espécie de *Colletotrichum* associados a antracnose em folhas de pinha (*A. squamosa* L.) e a graviola (*A. muricata* L.) no Estado do Alagoas. Através da morfometria de conídios e apressórios, e por meio do sequenciamento da região ITS comprovaram a existência de quatro espécies, *C. gloeosporioides*, *C. boninense*, *C. fragariae* e *C. magna*.

A exemplo do que foi observado neste trabalho com atemóia, a associação de mais que uma espécie de *Colletotrichum* causando antracnose em um mesmo hospedeiro também é relatada em outras frutíferas, como por exemplo, o maracujazeiro, que pode ser atacado por *C. acutatum*, *C. boninense* e *C. gloeosporioides* (8; 1; 22).

A ocorrência de duas ou mais espécies de *Colletotrichum* parasitando um mesmo hospedeiro pode dificultar o controle da antracnose, tornando-a uma doença ainda mais importante. Este fato se deve ao comportamento diferenciado entre espécies, como já foi verificada para a antracnose do pimentão no Brasil, doença causada por *C. acutatum*, *C. boninense*, *C. capsici*, *C. coccodes* e *C. gloeosporioides*, as quais apresentam sensibilidade diferenciada aos fungicidas azoxistrobina, carbendazim, tiabendazol e tebuconazol (21)

A identificação de duas novas espécies de *Colletotrichum* ocorrendo nesta cultura é de grande valia para o conhecimento da variabilidade da população do patógeno, visto que até o momento somente uma

espécie deste patógeno foi descrita como causadora de doença em atemóia. Essas informações são fundamentais para o desenvolvimento ou recomendação de medidas adequadas de manejo da doença, seja ela baseada em métodos culturais, genéticos ou químicos (23).

A dinâmica da colonização do fruto pelo fungo pode ser visualizada na figura 4. Os esporos do isolado AT7, identificado como *C. boninense* germinaram entre duas e quatro horas após a inoculação. Seis horas após a inoculação já é possível observar a penetração direta do fungo no tegumento do fruto, sendo que não foi observado o uso dos estômatos na superfície do fruto para colonização.

Após a germinação destes esporos, a colonização ocorreu normalmente sendo que 24 e 48 horas após a inoculação havia uma grande quantidade de micélio sobre a superfície do fruto. Resultados similares foram obtidos por Lins, Abreu e Alves (12), os quais observaram que os conídios de *C. gloeosporioides* germinam 5 horas após a inoculação em plântulas de cafeeiro.

Segundo alguns autores a germinação de conídios de *Colletotrichum* pode ser altamente variável, podendo ocorrer entre três a 48 horas após o contato do fungo com seu hospedeiro (2; 13). Por exemplo, estudos realizados com *C. gloeosporioides* em frutos de goiabeira, mostraram que a germinação de conídios deste fungo e formação de apressórios ocorreu seis horas após a inoculação (h.a.i) (14), sendo este tempo superior ao que foi observado no presente trabalho.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP (Processo 2011/05710-0) e a CNPq pelo auxílio financeiro, ao Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica da ESALQ, USP e ao Professor Dr. Francisco André Ossamu Tanaka.

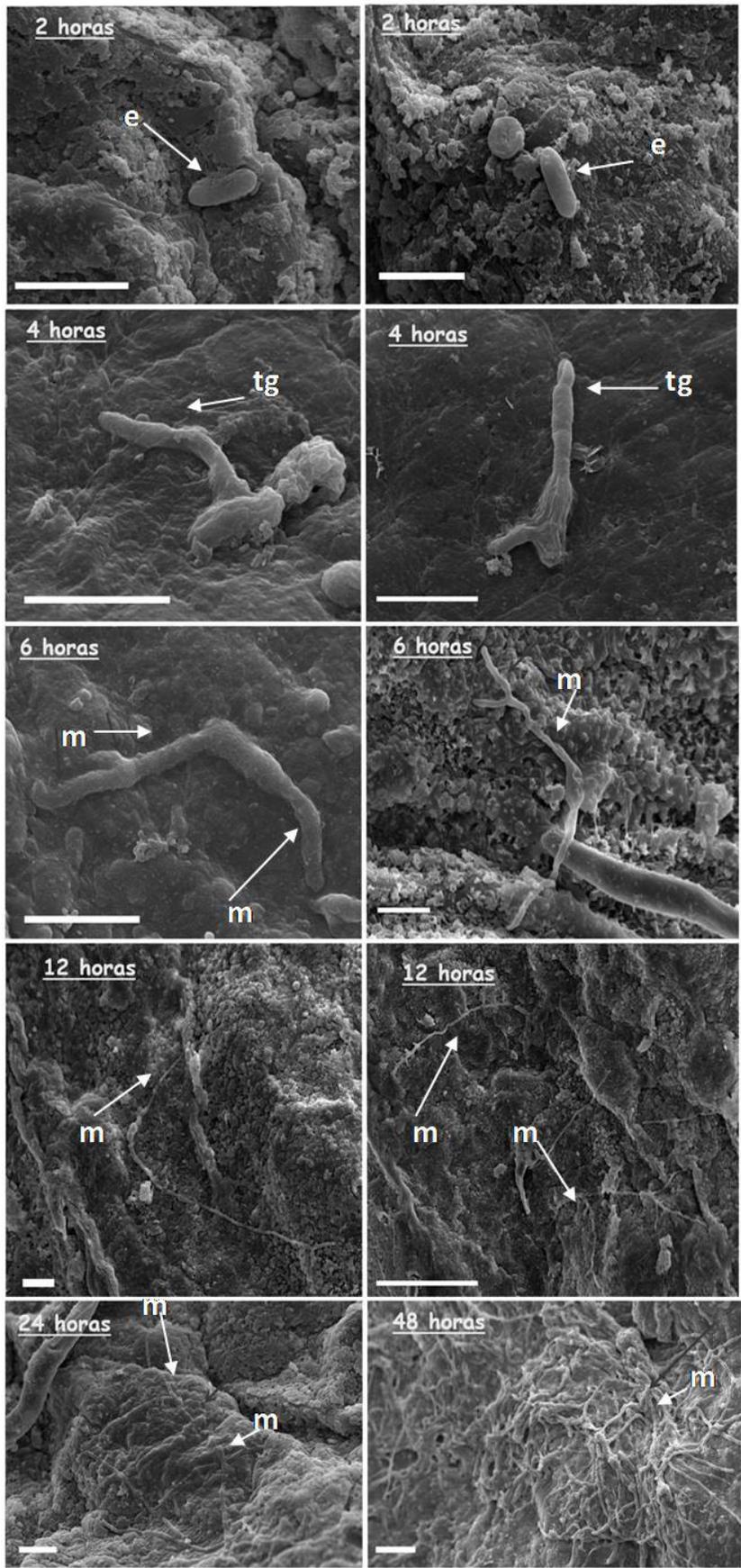


Figura 4. Isolado de *Colletotrichum boninense* com 2, 4, 6, 12, 24 e 48 horas após a inoculação em frutos de atemóia (e=esporo; m=micélio, tg=tubo germinativo; barras=20µm).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, L.C.C.; Coêlho, R.S.B. Caracterização da agressividade de isolados de *Colletotrichum* de maracujá amarelo com marcadores bioquímico, fisiológico e molecular. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 318-328, 2007.
- Bailey, J.A.; Jeger, M.J. *Colletotrichum*: biology, pathology and control. England: CAB Internacional Wallingford, 1992. 388p.
- Cai, L.; Hyde, K.D.; Taylor, P.W.J.; Weir, B.S.; Waller, J.; Abang, M.M.; Zhang, J.Z.; Yang, Y.L.; Phoulivong, S.; Liu, Z.Y.; Prihastuti, H.; Shivas, R.G.; Mckenzie, E.H.C.; Johnston, P.R. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, Chiang Mai, v. 39, p. 183-204, 2009.
- Cannon, P.F.; Bridge, P.D.; Monte, E. Linking the past, present, and future of *Colletotrichum* Systematics. In: PRUSKY, D., FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.). *Colletotrichum*: Host Specificity, Pathology and Host-Pathogen Interaction. Saint Paul: APS Press, 2000. p. 1-19.
- Crouch, J.A.; Clarke, B.B.; White, J.F.; Hillman, B.I. Systematic analysis of the falcate-spored gramminicolous *Colletotrichum* and a description of six new species of the fungus from warm season grasses. **Mycologia**, New York, v. 101, p. 717-732, 2009.
- Damm, U.; Woudenberg, J.H.C.; Cannon, P.F.; Crous, P.W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, Chiang Mai, v. 39, p. 45-87, 2009.
- Damm, U.; Cannon, P. F.; Woudenberg, J. H. C.; Johnston, P. R.; Weir, B. S.; Tan, Y. P.; Crous, P. W. The *Colletotrichum* boninense species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 73, 1-36, 2012.
- 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**, Lancaster, v. 95, n. 5, p. 872-895, 2003.
- 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.; Pfennig, L.H.; Prihastuti, H.; Sato, T.; Shivas, R.G.; Tan, Y.P.; Taylor, P.W.J.; Weir, B.S.; Yang, Y.L.; Zhang, J.Z. *Colletotrichum* – names in current use. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, p. 147-182, 2009.
- Kamei, S. H.; Costa, J. F.O.; Brito Netto, M. S.; Assunção, I. P.; Lima, G. S. A. Identificação e caracterização de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose de anonáceas no estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, p.209-216, 2014.
- Kirk, P.M.; Cannon, P.F.; Minter, D.W.; Stalpers, J.A. **Dictionary of the fungi**. 10th ed. Wallingford: CAB International, 2008. 784 p.
- Lins, S. R. O.; Abreu, M. S.; ALVES, E. Estudos histopatológicos de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.32, n.6, p. 488-495, 2007.
- Lopez, A.M.Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.9, p.291-339, 2001.
- Moraes, S. R. G.; Tanaka, F. A. O.; Massola Junior, N. S.. Histopathology of *Colletotrichum* gloeosporioides on guava fruits (*Psidium guajava* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.35, n.2, pp.2013.
- Murray, M.G.; Thompson, W.F. Rapid isolation of highmolecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.8, n. 19, p. 4321-4325, 1980.
- Pereira, P. M.; Kavati, R. Contribuição da pesquisa científica brasileira no desenvolvimento de algumas frutíferas de clima subtropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, Volume Especial, p. 092-108, 2011.
- Prihastuti, H.; Sato, T.; Shivas, R.G.; Tan, Y.P.; Taylor, P.W.J.; Weir, B.S.; Yang, Y.L.; Zhang, J.Z. *Colletotrichum* – names in current use. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, p. 147-182, 2009.
- SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A.; JEGGER, M.J. (Ed.). *Colletotrichum*: biology, pathology and control. Oxon: CAB International, 1992. p. 1-26.
- Takahashi, L. M.; Rosa, D. D.; Basseto, M. A.; Furtado, E. L.. Caracterização fisiológica, morfológica, cultural e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. causadores de antracnose em atemóia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*). **Boletín de Sanidad Vegetal Plagas**, Madrid, v. 35, p. 115-130, 2009.
- Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M.; Kumar, S. MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 28, n. 10, p. 2731–2739, 2011.
- Tozze Júnior, H. J.; Firmino, A. C.; Massola Júnior, N. S. . Sensibilidade in vitro de isolados de *Colletotrichum* spp. do pimentão a fungicidas sistêmicos. In: XXXIV Congresso Paulista de Fitopatologia, 34., 2011, Campinas. **Summa Phytopatologica**, Botucatu, 2011. v. 36. (CD)
- Tozze Júnior, H.J.; Fischer, I.H.; Câmara, M.P.S.; Massola Júnior, N.S. First report of *Colletotrichum boninense* infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, Orange, v. 5, p. 70-72, 2010.
- Tozze Júnior, H.J.; Mello, M.B.A.; Massola Júnior, N.S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p. 71-79, 2006.
- Villanueva-Arce, R.; Hernández-Anguiano, A. M.; Yáñez-Morales, M.; Téliz-Ortiz, D.; Mora-Aguilera, A.; Cárdenas-Soriano, E.; Castañeda Vill dózola, A. Caracterización e identificación de *Colletotrichum fragariae* en frutos de chirimoya. **Agrociencia**, Texcoco, v. 39, n. 1, p. 93-106, 2005.
- Weir, B.S.; Johnston, P.R.; Damm, U. The *Colletotrichum* gloeosporioides species complex. **Studies in Mycology, Utrecht**, v. 73, p. 115–180, 2012.