



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE  
PERNAMBUCO**  
*PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO*



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM FITOPATOLOGIA**

## **Dissertação de Mestrado**

**Espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em  
*Bauhinia forficata***

**Francisco Jorge Carlos de Souza Junior**

**Recife – PE  
2017**

**FRANCISCO JORGE CARLOS DE SOUZA JUNIOR**

**ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À  
ANTRACNOSE EM *Bauhinia forficata***

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

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE) – Orientador

Prof. Delson Laranjeira (UFRPE) – Coorientador

Dr. Willie Anderson dos Santos Vieira (UFRPE) – Coorientador

**RECIFE – PE  
DEZEMBRO - 2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Nome da Biblioteca, Recife-PE, Brasil

S729e Souza Junior, Francisco Jorge Carlos de  
Espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em *Bauhinia forficata* / Francisco  
Jorge Carlos de Souza Junior. – 2017.  
37 f. : il.

Orientador(a): Marcos Paz Saraiva Câmara.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de  
Pós-Graduação Fitopatologia, Recife, BR-PE, 2017.  
Inclui referências.

1. Antracnose 2. *Bauhinia forficata* 3. *Colletotrichum* I. Câmara, Marcos Paz Saraiva,  
orient. II. Título

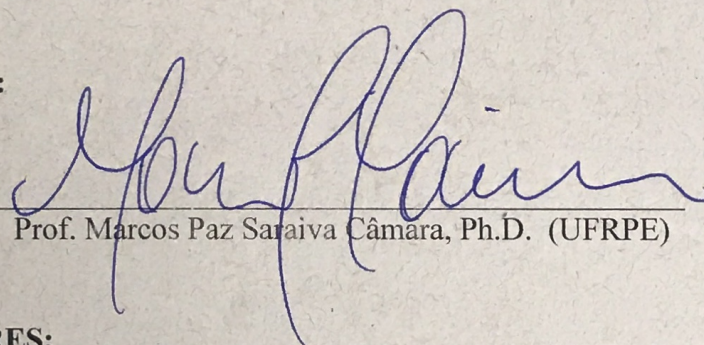
CDD 632

**ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE  
EM *Bauhinia forficata***

**Francisco Jorge Carlos de Souza Junior**

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em 07/12/2017.

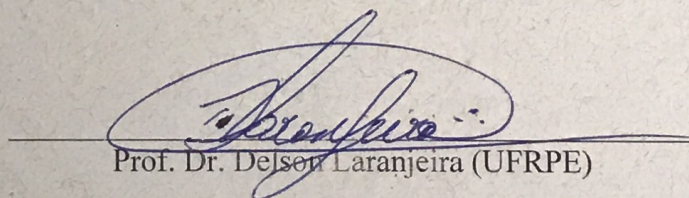
**ORIENTADOR:**



---

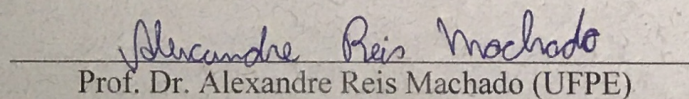
Prof. Marcos Paz Saraiva Câmara, Ph.D. (UFRPE)

**EXAMINADORES:**



---

Prof. Dr. Delson Laranjeira (UFRPE)



---

Prof. Dr. Alexandre Reis Machado (UFPE)

A Deus

## **Ofereço**

Aos meus pais, Francisco Jorge Carlos de Souza e Tânia Moreira de Lima Souza, e aos meus avós José Moreira Sobrinho (*in memoriam*) e Isabel Celestina de Lima.

**Dedico**



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo fim de mais essa etapa, pelos sonhos que se concretizam. Porque Dele, e por meio Dele, e para Ele são todas as coisas.

A meus pais, Jorge e Tânia, meu abrigo seguro, de onde recebi apoio incondicional nessa empreitada. Os primeiros a sonhar tudo isso, agradeço por acreditarem sempre no meu potencial.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia pela realização desde curso e aos professores pelos conhecimentos transmitidos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcos Câmara, pela atenção, dedicada, orientação e ensinamentos. Sempre serei grato

Ao meus co-orientadores Prof. Delson Laranjeira e Dr. Willie Anderson, como conselheiros importantes, deste a condução do trabalho até a revisão, com suas sugestões e correções.

Aos meus padrinhos Randy e Francine Rice que me deram todo o apoio do mundo, me incentivando nos momentos que mais precisei.

Aos meus irmãos Janielle e Jonathan Moreira, e minha prima Juliana que é quase uma irmã, por todos os conselhos e companheirismo nessa jornada da vida.

Ao meu avô José Moreira (*in memoriam*), que foi minha principal motivação a seguir nessa carreira, além de ser um exemplo por ter me ensinado o valor de se fazer as coisas da melhor maneira possível.

Um agradecimento especial às minhas queridas amigas Angélica, Carol e Lilian companheiras de disciplinas de quem a distância e o tempo nunca vão me separar, pois fazem parte do meu coração!

Serei eternamente grato a minha segunda mãe, Dona Alcione e Família que juntos me ajudaram nas minhas maiores dificuldades aqui em Recife.

A equipe do Laboratório de Micologia que estiveram comigo durante toda a execução do trabalho, em especial a Joseine e Anthoni.

Aos funcionários Darcy e Romildo pela presteza e atenção.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

**SUMÁRIO**

	Página
AGRADECIMENTO.....	v
RESUMO GERAL.....	vii
GENERAL ABSTRACT.....	viii
CAPITULO I.....	1
Referências Bibliográficas.....	7
CAPITULO II - ESPÉCIES DE <i>Colletotrichum</i> ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM <i>Bauhinia forficata</i> .....	12
Resumo.....	14
Introdução.....	16
Material e métodos.....	17
Resultados.....	20
Discussão.....	22
Referências.....	24
CONCLUSÕES GERAIS.....	36

## RESUMO GERAL

*Bauhinia forficata* Link é uma espécie nativa da América do Sul, amplamente distribuída nas regiões Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul do Brasil conhecida como pata-de-vaca comumente utilizada para fins medicinais, fonte de madeira e ornamentação em jardins e praças. O objetivo do trabalho foi caracterizar a prevalência e a diversidade de espécies de *Colletotrichum* causadoras de antracnose em *B. forficata* no Brasil. Foram coletados nas cidades de Recife, Anagé e Brasília, folhas de pata-de-vaca com sintomas de antracnose para obtenção de isolados de *Colletotrichum*. Foi realizada a identificação molecular das espécies por meio da análise multilocos utilizando os genes gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase-IGS (GAP2-IGS), calmodulina (CAL),  $\beta$ -tubulina (TUB2), glutamina sintetase (GS), DNA liase (APN2) e região intergênica entre DNA liase e Mat1-2 (APN2-Mat/IGS). Foi determinada a virulência e prevalência das espécies. Foram obtidos 60 isolados, sendo 30 de Recife (PE), 23 de Brasília (DF) e sete isolados de Anagé (BA). Foram identificadas as espécies *C. siamense*, *C. tropicale* e *C. chrysophilum*. *C. siamense* foi a espécie mais comum em todas as cidades com prevalência geral de 81,66%. Todas as espécies de *Colletotrichum* foram patogênicas em folhas de pata-de-vaca com ferimento, porém *C. siamense* foi a espécie mais virulenta. Este é o primeiro relato de *C. tropicale* e *C. chrysophilum* em *B. forficata* no Brasil.

**Palavras-chaves:** antracnose, *Bauhinia forficata*, *Colletotrichum*



## GENERAL ABSTRACT

*Bauhinia forficata* Link is a species native to South America, widely distributed in the Northeastern, Midwest, Southeast and South regions of Brazil known as the Paw-de-Cow commonly used for medicinal purposes, a source of wood and ornamentation in gardens and squares. The objective of this work was to characterize the prevalence and diversity of *Colletotrichum* species that cause anthracnose in *B. forficata* in Brazil. In the cities of Recife, Anagé and Brasília, cow leaves with anthracnose symptoms were collected to obtain *Colletotrichum* isolates. GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-IGS (GAP2-IGS), calmodulin (CAL),  $\beta$ -tubulin (TUB2) and glycopheraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), glutamine synthetase (GS), DNA lyase (APN2) and intergenic region between DNA lyase and Mat1-2 (APN2-Mat / IGS). The virulence and prevalence of the species were determined. Sixty isolates were obtained: 30 from Recife (PE), 23 from Brasília (DF) and seven isolates from Anagé (BA). The species *C. siamense*, *C. tropicale* and *C. chrysophilum* were identified. *C. siamense* was the most common species in all cities with a general prevalence of 81.66%. All species of *Colletotrichum* were pathogenic in leaves of foot paw with wound, but *C. siamense* was the most virulent species. This is the first report of *C. tropicale* and *C. chrysophilum* in *B. forficata* in Brazil.

**Keywords:** antracnose, *Bauhinia forficata*, *Colletotrichum*

# Capítulo I

---

---

## Introdução Geral

## Espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em *Bauhinia forficata*

### O Gênero *Bauhinia*

*Bauhinia* spp.L. pertencente à Família Fabaceae e Subfamília Caesapinoideae é uma planta originária da Ásia, distribuída em florestas tropicais e subtropicais, incluindo África, América Central e do Sul. O gênero é representado por aproximadamente 300 espécies, sendo 64 relatadas no Brasil (VAZ, 2010).

Dentre as espécies mais estudadas de *Bauhinia* spp., destacam-se *B. manca* Standl, *B. candicans* Benth, *B. uruguayensis* Benth, *B. purpurea* L., *B. forficata* Link e *B. splendens* Kunth devido suas propriedades farmacológicas. Porém *B.forficata* é a que apresenta maior número de estudos sobre seu uso fitoterápico (LORENZI; MATOS, 2002; SILVA; FILHO, 2002; VAZ; TOZZI, 2005).

*Bauhinia forficata* é nativa da América do Sul, ocorrendo na forma arbustiva como na forma arbórea, podendo alcançar até seis metros de altura (CARVALHO, 2003; LORENZI, 2002; PANIZZA, 2000; VAZ; TOZZI, 2005). Dentro da espécie *B.forficata* ocorrem duas subespécies, *B. forficata* subsp. *pruinosa* (Vogel) Fortunato e Wunderlin (sinonímia *B. candicans* Benth.) e *B. forficata* subsp. *forficata*.

*B. forficata* subsp.*pruinosa* é encontrada nas margens de matas na Argentina Paraguai, Uruguai e Brasil onde ocorre apenas nas regiões Sul(Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) e Sudeste (São Paulo), e *B. forficata* subsp. *forficata* é relatada apenas no território brasileiro nas regiões Nordeste (Alagoas, Bahia e Pernambuco), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e Sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) (DUARTE et al., 2007; FERRERES et al., 2012; FORTUNATO, 1986; VAZ; TOZZI, 2013; VAZ, 2015).

*Bauhinia forficata* é uma planta heliófila, indiferente quanto às condições de umidade do solo e com características exclusivas da mata semidecídua de altitude, onde ocorre em frequência elevada, porém com dispersão bastante irregular e descontínua (VIANA et al., 2008). As folhas de *B.forficata* medem entre 7-12 cm de comprimento com 2 folíolos unidos pela base, possuem formato largo ovadas, membranosas, coriáceas, com 9 nervuras e como característica marcante, apresentam-se divididas em dois lobos. As flores, de cor branca, apresentam pétalas desiguais, filiformes, dispostas em racemos axilares. Os frutos de *B. forficata* são deiscentes constituído por vagens que possuem diversas sementes, de coloração castanho a preto, achatadas com poros com

cerca de 1 cm. (CARVALHO, 2003; CORRÊA et al., 2002; LORENZI; MATOS, 2002; PANIZZA, 2000; VAZ; TOZZI, 2003).

*Bauhinia forficata* é utilizada principalmente como ornamental devido a beleza de suas flores, sendo utilizadas em parques, jardins e cerca-viva (VAZ, 2013). Porém é também bastante utilizada na medicina popular, possuindo propriedades hipoglicemiantes comprovadas farmacologicamente, além de ser utilizada no tratamento de inflamações renais (LORENZI, 2002; MENEZES et al., 2007). Os primeiros relatos acerca da atividade antidiabética de *B. forficata* foram realizados em 1929, através de ensaios com pacientes diabéticos (LIMA, 2009).

Além de suas propriedades medicinais *B. forficata* apresenta grande potencial para uso em recuperação de áreas degradadas, pois sendo uma espécie fixadora de nitrogênio no solo, ajuda na recuperação de ecossistemas degradados e de terrenos erodidos, assim como na restauração de mata ciliar em locais com inundações periódicas de rápida duração ou períodos de leve encharcamento (LORENZI, 2002; OLIVEIRA et al., 2001).

E pode ser utilizada como fonte de madeira na produção de celulose e papel, construção civil, produção de carvão e lenha de boa qualidade e utilizada na confecção de objetos em marcenaria (BACKES; IRGANG, 2004).

Apesar de *B. forficata* ser bastante resistente, pode ser acometida negativamente por diversos fatores como os insetos *Oncideres saga* Dalman e *O. gutturator* Fabricius que causam danos diretos a planta (CARVALHO, 2003), além das doenças causadas que podem ser tornar um fator limitante devido as perdas que provocar.

Diversos gêneros fúngicos são relatados na literatura causando doença em *B. forficata*, destacando-se *Colletotrichum*, *Oidium* e *Nigrospora*. Porém, *Colletotrichum* spp. como agentes de antracnose se destaca dos demais, devido a sua comum ocorrência (DIAS et al., 2012; SHARMA; SHENOY, 2013).

### **Antracnose em *B. forficata***

A antracnose causada por *Colletotrichum* spp. é a principal doença que ocorrem em *B. forficata*, que sob condições de alta umidade provocam sintomas como manchas foliares e lesões circulares nas vagens e folhas, além de deterioração das sementes (SHARMA; SHENOY, 2013).

Os sintomas da antracnose em *B. forficata* iniciam-se com manchas castanhas avermelhadas nas margens das folhas, que aumentam em tamanho e por fim coalescem, apresentando bordos pretos, e halo amarelo, podendo tomar a folha por completo,

causando a sua morte. Já em estágio avançado da doença massas mucilaginosas são observadas, desenvolvendo-se nas lesões em condições de alta úmidas (LARRAN et al., 2015; LI et al., 2016; SHARMA; SHENOY, 2013). Em sementes de *B. forficata* infectadas com *Colletotrichum* spp., é observada uma drástica redução da germinação causada pelo patógeno (SANTOS et al., 2001).

### **O Gênero *Colletotrichum***

*Colletotrichum* spp. Corda é um dos principais gêneros de fungos fitopatogênicos, mundialmente conhecido, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, envolvendo espécies que causam doenças de expressão econômica em leguminosas, cereais, hortaliças, culturas perenes e diversas frutíferas (LIMA et al., 2013; LIU et al., 2013; MANAMGODA et al., 2013; SHARMA et al., 2013; UDAYANGA et al., 2013; VIEIRA et al., 2014).

Essas espécies de *Colletotrichum* são caracterizadas basicamente pela formação de estruturas denominadas acérvulos com ou sem setas alongadas, septadas, e pigmentadas, conidióforos simples e alongados, conídios hialinos geralmente em forma de bastonete, que permanecem nos acérvulos aderidos por uma massa mucilaginosa de polissacarídeos, solúveis em água (LIMA, 2010). *Colletotrichum* spp. penetra na planta por intermédio de aberturas naturais, ferimentos e/ou via direta na cutícula da folha, por meio da formação de apressório (BAILEY et al., 1992).

Tais espécies de *Colletotrichum* são caracterizados por apresentarem frutificações, conhecidas como acérvulos, nos quais esporos hialinos são produzidos em massas mucilaginosas alaranjada. Inicialmente o gênero foi identificado com *Vermicularia* Tode (TODE, 1970), pois apresentava corpos de frutificação semelhantes a estromas. Estes corpos de frutificação de *Vermicularia* foram considerados por Saccardo (1884), uma fase de desenvolvimento do acérvulo de *Colletotrichum*. Em 1849, foi descrito *Gloeosporium* Desm. & Mont., semelhante a *Colletotrichum*, porém este não produzia setas no acérvulo. Porém, como a formação de setas está diretamente ligada às condições ambientais e nutricionais, deixou de ser um critério utilizado na taxonomia para separação dos dois gêneros (BAILEY; JEGER, 1992; SACCARDO, 1884).

Em 1957, von Arx revisando a taxonomia de *Colletotrichum* spp. estabeleceu que as diversas espécies de *Colletotrichum*, *Vermicularia* e *Gloeosporium* pertenciam a um único gênero *Colletotrichum* foi reconhecido como nome válido para a junção de todas as espécies dos três gêneros. (von Arx, 1957), o número de espécies,

aproximadamente 750, foi reduzida para 11 com base em caracteres morfológicos(KIRK et al., 2008).

Sutton (1980) publicou uma chave dicotômica para *Colletotrichum* spp. com 22 espécies, já em 1992 esta lista aumentou para quase 40 espécies válidas, baseada em estudos mais precisos dos parâmetros anteriormente utilizados, como a morfologia, caracteres culturais e capacidade patogênica (SUTTON, 1980; SUTTON, 1992).

Algumas espécies de *Colletotrichum* são específicas para determinados hospedeiros, enquanto que outras, podem ocorrer em uma ampla gama de hospedeiros (SILVA et al.,2012). Outras características deste gênero são que suas espécies apresentam variações morfológicas e culturais, ocasionando discrepâncias entre os isolados de *Colletotrichum* no que se refere a utilização de diferentes substratos, alterações na faixa de temperatura, pH e atividade enzimática (CAI et al., 2009). Diante disso, a taxonomia convencional apenas com características morfológicas e patogênicas, tornou-se insuficiente para a definição de várias espécies de *Colletotrichum*, exigindo, portanto, a aplicação conjunta de outros métodos que possibilitem uma identificação correta (CAI et al., 2009; DEAN et al., 2012; PRUSKY, 1983; WEIR et al., 2012).

As combinações de caracteres moleculares com conceito de espécies filogenéticas podem resolver diversas limitações na identificação de espécies de *Colletotrichum* spp. (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; DAMM et al., 2012; WEIR et al., 2012).Assim a utilização de dados moleculares de sequenciamento de DNA, surge como uma ferramenta vantajosa para a taxonomia de fungos, primordialmente por meio de análises filogenéticas (DAMM, et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2010).

A abordagem molecular revolucionou o conceito do agente causal de antracnose em várias fruteiras tropicais, que até então era representada por apenas uma espécie monofilética (*C. gloeosporioides*) (NASCIMENTO et al., 2010; TARNOWSKI; PLOETZ, 2010). A região ITS por um longo período foi considerada uma abordagem extremamente útil na determinação de espécies de *Colletotrichum* spp. e de outros fungos filamentosos (SCHOCH et al., 2012). Essa região gênica foi escolhida como o “código de barras para fungos” todavia, devido à baixa informatividade da região ITS que resulta em ambiguidade na identificação de *Colletotrichum* spp., muitos estudos recentes de filogenia começaram a empregar múltiplos marcadores, incluindo os genes gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), actina (ACT), calmodulina (CAL),  $\beta$ -tubulina (TUB) Histona 3 (HIS), glutamina sintetase (GS), DNA lyase (Apn2), região

intergênica entre DNA lyase e Mat1-2 (Apn2-Mat/IGS) e quitina Sintase (CHS1) (CANNON et al., 2012; DAMM et al., 2012; DAMMETAL, 2012; DOYLE et al., 2013; GUNJANETAL, 2013; PENG et al., 2012; WEIR et al., 2012).

Diversas espécies de *Colletotrichum* já foram associadas a antracnose em espécies de *Bauhinia*, Bezerra et al. (2015) trabalhando com a comunidade de fungos endofíticos em *B. forficata*, observaram que isolados de *C. gloeosporioides sensu lato* eram frequentemente isolados do material vegetal, destacando-se assim dos demais fungos. No ensaio de Kandasamy et al. (2015) com *B. racemosa* foram verificadas diversas espécies de *Colletotrichum*: *C. circinans*, *C. crassipes*, *C. falcatum*, *C. spiralis* e *C. truncatum*. Li et al. (2016) relatam *C. gloeosporioides* em folhas de *B. blakeana*, que estavam causando sintomas de antracnose, na China. Em *B. variegata*, Sharma e Shenoy, (2013) descrevem em seu trabalho algumas espécies do complexo *C. boninense*, que foram isoladas tanto endofiticamente, como patogênica de tecido vegetal, relatando o primeiro caso de *C. phyllanthi* da cultura na Índia. Sharma et al. (2015) trabalhando com *B. variegata* encontraram novos isolados de *C. siamense* (sin. *C. communis* e *C. dianesei*) Larran et al. (2015), observaram isolados de *C. siamense* causando antracnose em *B. forficata* subsp. *pruinosa* na Argentina. Entretanto, no Brasil não há trabalhos publicados relacionados a associação de *Colletotrichum* em espécies de *Bauhinia*.

Diante dos diversos estudos relacionados ao gênero *Colletotrichum* em diferentes plantas (DAMM et al., 2012), é importante o conhecimento deste agente etiológico na associação em espécies de *Bauhinia*, além de contribuir para no estudo de *Bauhinia* spp.. Portanto é desconhecida a etiologia da antracnose em *B. forficata* no Brasil. Logo é esperado que conforme visto em diversos trabalhos de *B. forficata*, existam diversas espécies de *Colletotrichum* associada a antracnose em *B. forficata* no Brasil. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade, prevalência e virulência de espécies de *Colletotrichum* associadas a antracnose em pata-de-vaca (*B. forficata*) em Recife, Brasília e Anagé.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARX, J.A. VON. Die Arten der Gattung *Colletotrichum*. **Phytopathologische Zeitschrift**. v.29(4): p.413-468.1957.
- BACKES, P.; IRGANG, B. Mata Atlântica: as árvores e a paisagem. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2004. 396p.
- BAILEY, J.A.; O'CONNELL, R.J.; PRING, R.J.; NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.G. *Colletotrichum*: biology, pathology and control. Wallingford: Center for Agriculture and Biosciences International, 1992. v.1, cap.5, p. 88-120.
- 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*. **FungalDivers** v. 39 p.183–204. 2009.
- CANNON, P.F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S. *Colletotrichum* – current status and future directions. **Studies in Mycology**. v.73. p.181–213. 2012.
- CARVALHO, P. E. R. Espécies arbóreas brasileiras. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. v. 1, 1039 p.
- DAMM, U.; CANNON, P.F.; WOUDEBERG, J.H.C.; JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S. The *Colletotrichum boninense* species complex. **StudiesinMycology**. v.73. p.1–36. 2012.
- DUARTE, M.R.; SILVA, A.G.; COSTA, R.E.; FARIA, L.T. *Bauhiniavariegata*: diagnose morfoanatómica e análise comparativa entre exemplares de regiões climáticas distintas. **Lat Am J Pharm**. v.26 n.6 p.837-45, 2007.

- FERRERES, F.; GIL-IZQUIERDO, A.; VINHOLES, J.; SILVA, S.T.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P.B. *Bauhinia forficata* Link authenticity using flavonoids profile: Relation with their biological properties. *Food Chemistry*. v.134. p.894–904, 2012
- FORTUNATO, R.H. Revision del genero *Bauhinia* (Cerdideae, Casalpinoidea, Fabaceae) para la Argentina. **Darwiniana**. 1986;27(1-4):527-57.
- KIRK, P.; CANNON, P.F.; MINTER, D.W.; STALPERS, J.A. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 10th edn. CAB International, Wallingford, UK. 2008.
- LARRAN, S., J. V. BAHIMA, G. D. BELLO, E. FRANCO, AND P. BALATTI. . *Colletotrichum siamense* causing anthracnose in *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* in Argentina. **Australasian Plant Disease Notes** 10:7. 2015
- LIMA, J.F. Estabelecimento da cultura de células de *Bauhinia forficata* Link como fonte de metabólitos bioativos. [Dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2009.
- LIU, F.; DAMM, U.; CAI, L.; CROUS, P.W. Species of the *Colletotrichum gloeosporioides* complex associated with anthracnose diseases of Proteaceae. **Fungal Divers** 61:89–105. 2013.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. 2002. **Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, Plantarum.
- MANAMGODA, D.S.; UDAYANGA, D.; CAI, L.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K.D. Endophytic *Colletotrichum* from tropical grasses with a new species *C. endophytica*. **Fungal Divers** 61:107–115. 2013.
- NASCIMENTO, R.J.; MIZUBUTI, E. S. G.; CÂMARA, M. P. S.; FERREIRA, M. F.; MAYMON, M.; FREEMAN, S.; MICHEREFF, S. J. First report of papaya fruit rot caused by *Colletotrichum magna* in Brasil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 12, p.1506, 2010.

OLIVEIRA, F.; KATO, E.T.M.; RODRIGUES, R.F.O.; BASSO, S.L. Mitos e verdades sobre pata-de-vaca – *Bauhinia forficata* Link – Uma revisão. **Lecta-USF**. 2001;19(1):07-20.

PANIZZA, S. Plantas que curam (Cheiro de Mato) 15a ed. IBRASA, São Paulo, 279p. 1997.

ROSA, S. G. T.; FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de plantas medicinais lenhosas. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 15, n. 2, p. 147-154, 2001.

SACCARDO, P.A. . Conspectus generum *discomycetum* hucusque conitorum. **Botanisches Centralblatt**. v.18: p.213-256.1884.

SANTOS, M.R.; HENZ, G.P.; LIMA, M.L.P.; CAFÉ-FILHO, A.C. Reação de frutos verdes e maduros de *Capsicum* spp. a antracnose. **Fitopatologia Brasileira** 29 (suplemento): 58. 2001.

SCHOCH, C.L.; SEIFERT, K.A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V.; LEVESQUE, C.A. WEN, C. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington DC, v. 109, n. 16, p. 6241-6246, 2012.

SHARMA, G.; SHENOY, B. D. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 47(10): 1179-1194. 2013.

SHARMA, G.; SHENOY, B. D. *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chili anthracnose in India. **Archives of Phytopathology and Plant Protection** 47:1179-1194. 2015.

SILVA, K.L.; CECHINEL FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química nova**, v.25, n.3, p. 449-454. 2002.

SUTTON, B.C. The *Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England. 1980.

TARNOWSKI, T. L. B.; PLOETZ, R. C. First Report of *Colletotrichum boninense*, *C. capsici*, and a *Glomerella* sp. as causes of postharvest anthracnose of passion fruit in Florida. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 6, p. 86-87, 2010.

UDAYANGA, D.; MANAMGODA, D. S.; LIU, X.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits? **Fungal Diversity**, 61:165–179, 2013.

VAZ, A. M. S. F. *Bauhinia*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 396p.

VAZ, A.M.S.F. & TOZZI, A.M.G.A. 2003. *Bauhinia* ser. *Cansenia* (Leguminosae: Caesalpinoideae) no Brasil. **Rodriguésia** **54**: 55-143

VAZ, A.M.S.F. 2010. *Bauhinia* In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB022811>>. acesso em: 20 set. 2017.

VAZ, A.M.S.F.; TOZZI, A.M.G.A. 2005. Sinopse de *Bauhinia* sect. *Pauletia* (Cav.) D.C. (Leguminosae: Caesalpinoideae: Cercideae) no Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **28**: 477-491.

VIANA, J.S., GONÇALVES, E.P., ANDRADE, L.A., OLIVEIRA, L.S.B., SILVA, E.O. Crescimento de Mudas de *Bauhinia Forficata* Link em Diferentes Tamanhos de Recipientes. **Floresta**. v.38 n.4. p.663-71, 2008

VIEIRA, W.A.; MICHEREFF, S.J.; DE MORAIS, J.R.M.A.; HYDE, K.D.; CÂMARA, M.P. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. **Fungal Divers.** v.67. p.181–202, 2014.

VON, A. Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. **Phytopathologische Zeitschrift**. v.29. p.413–468. 1957.

WEIR, B.S., JOHNSTON, P.R., DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Stud Mycol**. v.73. p.115–180. 2012.

## Capítulo II

---

---

### **ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM *Bauhinia forficata***

**Submissão: European Journal of Plant Pathology**

1 **ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADAS À ANTRACNOSE EM *Bauhinia***  
2 ***forficata***

3

4

5 **Francisco Jorge Carlos de Souza Junior<sup>1</sup>, Willie Anderson Vieira<sup>1</sup>, Josiene**  
6 **Silva Veloso<sup>1</sup>, Delson Laranjeira<sup>1</sup>, Marcos Paz Saraiva Câmara<sup>1</sup>.**

7 1. Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
8 Recife, 52171-900, PE, Brasil.

9 Autor para correspondência: Marcos Paz Saraiva Câmara, email:

10 marcos.camara@ufrpe.br

11



12 **Resumo:** *Bauhinia forficata* é uma importante planta dentro de um gênero  
13 constituído por diversas espécies que são utilizadas na medicina popular.  
14 Diversos trabalhos com *B. forficata* relatam suas propriedades no tratamento de  
15 diabetes, infecções, dor e processos inflamatórios. Apesar de ser uma planta  
16 bastante resistente, é atacada por patógenos e pragas. A associação de  
17 *Colletotrichum* com a *B. forficata* é tema de pesquisas de trabalhos em vários  
18 países. O objetivo do trabalho foi estudar as espécies de *Colletotrichum* associada  
19 a antracnose em *B. forficata* no Brasil. Foram coletadas amostras foliares de *B.*  
20 *forficata* nas cidades de Recife (PE), Brasília (DF) e Anagé (BA) do Brasil.  
21 Posteriormente foi realizada a identificação molecular das espécies por meio da  
22 análise multilocus utilizando os genes gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase  
23 (GAPDH), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase- IGS (GAP2-IGS), Calmodulina  
24 (CAL),  $\beta$ -tubulina (TUB2), Glutamina sintetase (GS), DNA liase (APN2) e a região  
25 APN2-Mat/IGS. Em seguida foi determinada a agressividade e prevalência das  
26 espécies. No presente trabalho foi encontrada a presença de *C. siamense*, *C.*  
27 *tropicale* e *C. chrysophilum*. *C. siamense* é a espécie mais prevalente, encontrada  
28 nas três cidades amostradas, além de ser também a espécie mais agressiva.  
29 Este é o primeiro relato de *C. tropicale* e *C. chrysophilum* em *B. forficata* no Brasil.

30

31

32 **Palavras-chaves:** filogenia, virulência, prevalência, diversidade

33

34 **Abstract:** *Bauhinia forficata* is an important plant within a genus made up of several  
35 species that are used in folk medicine. Several works with *B. forficata* report their  
36 properties in the treatment of diabetes, infections, pain and inflammatory processes.  
37 Despite being a fairly resistant plant, it is attacked by pathogens and pests. The  
38 association of *Colletotrichum* with *B. forficata* is the subject of research in several  
39 countries. The objective of this work was to study the *Colletotrichum* species  
40 associated with anthracnose in *B. forficata* in Brazil. Leaf samples of *B. forficata* were  
41 collected in the cities of Recife (PE), Brasília (DF) and Anagé (BA), Brazil. The  
42 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), glyceraldehyde-3-phosphate  
43 dehydrogenase-IGS (GAP2-IGS), Calmodulin (CAL),  $\beta$ -tubulin (TUB2), Glutamine  
44 synthetase (GS), DNA lyase (APN2) and the APN2-Mat / IGS region. The  
45 aggressiveness and prevalence of the species were then determined. In the present  
46 work the presence of *C. siamense*, *C. tropicale* and *C. chrysophilum* was found. *C.*  
47 *siamense* is the most prevalent species, found in the three cities sampled, besides  
48 being also the most aggressive species. This is the first report of *C. tropicale* and *C.*  
49 *chrysophilum* in *B. forficata* in Brazil.

50

51

52

53

54

55

56 **Keywords:** phylogeny, virulence, prevalence, diversity

57

58

59

## 60 INTRODUÇÃO

61 O gênero *Bauhinia* L. compreende aproximadamente 300 espécies de  
 62 plantas amplamente distribuídas nas florestas tropicais e subtropicais, das  
 63 quais 64 são relatadas no Brasil.  
 64 As espécies *Bauhinia manca* Standl, *B. candicans* Benth, *B. uruguayensis* Benth, *B. pu*  
 65 *rpurea* L., *B. forficata* Link e *B. splendens* Kunth estão entre as espécies mais  
 66 estudadas. Espécies de *Bauhinia* são utilizadas como plantas medicinais, tanto  
 67 *in natura* como na composição de fitoterápicos industrializados. A espécie *B.*  
 68 *forficata* é a mais utilizada na medicina popular, possuindo propriedades  
 69 hipoglicemiantes comprovadas farmacologicamente, além de ser utilizada no  
 70 tratamento de inflamações renais (Lorenzi 2002, Menezes et al. 2007).

71 Apesar das plantas medicinais serem bastante resistente a diversos  
 72 patógenos, os fungos podem tornar um fator limitante a *B.*  
 73 *forficata*, devido a perdas que podem provocar. *Colletotrichum*, *Oidium* e  
 74 *Nigrospora* são os principais patógenos relatados em *B. forficata*, destacando-  
 75 se *Colletotrichum* spp. como agentes causais de antracnose, sendo  
 76 considerada uma importante doença da cultura por ser a que mais ocorre (Dias  
 77 et al. 2012, Sharma and Shenoy, 2013).

78 Os sintomas da doença se apresentam na forma de manchas foliares que se  
 79 iniciam nas margens das folhas e progridem de tamanho, coalescendo e  
 80 apresentando coloração castanha a avermelhadas, já em vagens é observada  
 81 lesões circulares e deterioração das sementes (Sharma and Shenoy, 2013).  
 82 Quanto as espécies de *Colletotrichum* associada a antracnose em *Bauhinia*, já  
 83 foram relatadas *C. gloeosporioides sensu lato* na China (Li et al. 2016), *C.*  
 84 *circinans*, *C. crassipes*, *C. falcatum*, *C. spiralis* e *C. truncatum* na Índia  
 85 (Kandasamy et al. 2015), *C. boninense* e *C. phyllanthi* na Índia (Sharma and  
 86 Shenoy, 2013), *C. siamense* (sin.  
 87 *C. communise C. dianese* na Índia (Sharma et al. 2015) e na Argentina (Larran et  
 88 al., 2015).

89 A identificação de espécies de *Colletotrichum* é altamente complexa, pois  
 90 utiliza critérios morfológicos ou culturais da colônia, que apresentam bastante  
 91 plasticidade, variando conforme as condições e métodos experimentais  
 92 (Cannon et al. 2012, Hyde et al. 2009). Em estudos recentes, diversas espécies  
 93 de *Colletotrichum* foram identificados utilizando características morfológicas e  
 94 filogenia multilocus por meio de uma abordagem polifásica, que confere uma  
 95 melhor caracterização e identificação de espécies de *Colletotrichum* (Damm et  
 96 al. 2012).

97 Até o momento são desconhecidas as espécies de  
98 *Colletotrichum* associadas à antracnose em *B. forficata* no Brasil. Acredita-se  
99 que exista mais de uma espécie de *Colletotrichum*, conforme já foi observado  
100 em outros trabalhos com plantas tropicais para diversos patógenos (Gonçalves  
101 et al. 2015, Lima et al. 2013, Netto et al. 2017). O objetivo do trabalho foi  
102 identificar as espécies de *Colletotrichum* associadas a antracnose em pata-de-  
103 vaca (*B. forficata*) nas cidades de Anagé (BA), Brasília (DF), Recife (PE) do  
104 Brasil.

105

## 106 MATERIAL E MÉTODOS

107

### 108 Coleta e isolamento

109

110 Folhas de *B. forficata* apresentando sintomas típicos de antracnose foram  
111 coletadas nas cidades de Recife (PE), Anagé (BA) e Brasília (DF) no Brasil.  
112 Fragmentos da região de transição entre o tecido sadio  
113 e doente foram desinfestados com etanol 70% por 30 segundos, 1% de hipoclorito de  
114 sódio (NaOCl) por 1 minuto, lavados em água destilada estéril por 30 segundos e  
115 em papel filtro estéril. Os fragmentos foram transferidos para placas contendo  
116 meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e incubadas a 25°C com  
117 fotoperíodo de 12 horas. Os isolados morfologicamente identificados como  
118 *Colletotrichum*  
119 foram preservados pelo método de Castelani (Menezes and Assis 2004) em tubos  
120 criogênicos de 2 mL contendo 1 mL de água destilada esterilizada e  
121 armazenados a 25°C no escuro.

122

### 123 Extração de DNA, PCR e sequenciamento

124

125 Colônias crescidas em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar)  
126 incubadas em temperatura de 25°C durante 7 dias, foram utilizadas para  
127 extração de DNA segundo o protocolo de extração CTAB (brometo de  
128 cetiltrimetilamônio) descrito por Doyle and Doyle (1987) com modificações. A  
129 concentração de DNA foi mensurada em NanoVue Plus Spectrophotometer (GE  
130 Healthcare, USA) e foi diluída para 25 ng/μL para ser utilizada nas reações de  
131 PCR.

132 Inicialmente todos os isolados foram amplificados na região intergênica  
133 entre DNA lyase e Mat1-2 (APN2-Mat/IGS) (Rojas et al. 2010), para mensurar a

134 diversidade. Foi realizado o alinhamento das sequências na versão online do  
135 MAFFT usando o método automático (Kato et al. 2008). Uma análise usando  
136 “Neighbor Joining” (Saitou and Nei 1987) foi utilizada para gerar uma árvore de  
137 distância para a identificação de haplótipos.

138 Um isolado de cada haplótipo foi escolhido ao acaso para as análises  
139 subsequentes. Para os isolados representativos foram amplificadas as regiões  
140 gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), gliceraldeído-3-fosfato  
141 desidrogenase-IGS (GAP2-IGS), Calmodulina (CAL),  $\beta$ -tubulina (TUB2),  
142 Glutamina sintetase (GS) e DNA liase (APN2).

143 Asreações em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas em um  
144 volume final de 25  $\mu$ l contendo 21  $\mu$ l de água, 1  $\mu$ l de DNA, 1.5  $\mu$ M de cada  
145 iniciador e 25  $\mu$ l de PCR Master Mix (2X) (Promega GoTaq Master Mix,  
146 Wisconsin, USA). A região APN2 foi amplificada com os primers CgDL\_R1 e  
147 CoIDL\_F3, APN2-Mat/IGS  
148 como primers CgDL\_F6 e CgMAT1\_F2 (Rojas et al. 2010); GAP2 com GAP-1041 e  
149 GAP/IGS-2044 (Vieira et al. não publicado); GAPDH com GDF e GDR (Guerber  
150 et al. 2003) e TUB2 com T1 e T22 (O’Donnell and Cigelnik 1997). A reação de  
151 PCR foi realizada no termociclador Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler  
152 (Applied Biosystems, Foster City, EUA) usando o seguinte programa para  
153 APMAT e APN2: 95 °C por 5 min., seguidos por 35 ciclos a 95 °C por 30 s,  
154 62°C por 42 s, 72 °C por 1 min e 72 °C por 10 min. Para GAPDH e GAP2-IGS:  
155 de 95 °C por 5 min., seguidos por 35 ciclos a 95 °C por 30 s, a 58 °C por 30 s,  
156 72°C por 1 min e 72 °C por 10 min. Para este mesmo ciclo do GAPDH, apenas a  
157 temperatura de anelamento foi alterada para os genes: TUB2 - 53 °C, GS - 58  
158 °C e CAL 57°C.

159 Os produtos de PCR foram purificados utilizando a enzima EXO-SAP  
160 (exonuclease I - shrimp alkaline phosphatase). As regiões amplificadas foram  
161 sequenciadas em ambas as direções utilizando a plataforma ABI PRISM<sup>®</sup> 3100-  
162 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) da Universidade Federal de  
163 Pernambuco (Recife, Brasil). A qualidade das sequências foi analisada com o  
164 programa Staden (Staden et al. 1998).

165 Os eletroferogramas foram avaliados e combinados em contigs utilizando  
166 o programa Pregap4 do pacote Staden (Staden et al. 1998) e as sequências  
167 obtidas no presente estudo foram depositadas no GenBank (Tabela 1).

168

169 **Análises filogenéticas e reconhecimento de espécies**

170

171 Alinhamentos das sequências múltiplas foram gerados para cada locus  
172 independentemente na versão online do MAFFT usando o método automático  
173 (Kato et al. 2008).

174 As análises filogenéticas foram realizadas usando as análises pelos  
175 métodos Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB) feitas tanto  
176 para os genes individuais como concatenados. As análises da MV e IB foram  
177 realizadas utilizando os programas RAxML-HCP2 v.7.0.4  
178 (Stamatakis 2006; Stamatakis et al. 2008) e MrBayes v 3.2.1 (Roquist et al. 2012)  
179 respectivamente implementadas no  
180 CIPRES Portal v.2.0 (<https://www.phylo.org/portal2/home.action>).

181 Para as análises das árvores da MV foram utilizando o modelo GTRGAMMA  
182 com 1000 repetições de bootstrap. Modelos de substituição de nucleotídeos  
183 foram calculados para cada locus individualmente utilizando o MrModeltest v.2.3  
184 (Nylander, 2008) e implementados nas IB. Quatro corridas foram conduzidas em  
185 quatro Cadeias de Markov e Monte Carlo por  $5 \times 10^7$  gerações, com  
186 amostragens a cada 1000 gerações. A convergência de todos os parâmetros foi  
187 verificada usando Tracer v1.5 (Rambaut and Drummond 2010) e a probabilidade  
188 posterior calculada após descartados os primeiros 25% das árvores geradas.

189 Árvores filogenéticas foram visualizadas no FigTree versão 1.4.0 (Rambaut  
190 2009). Alinhamentos e árvores do presente estudo foram depositados no  
191 TreeBase (XXXXX).

192 Espécies de *Colletotrichum* foram reconhecidas utilizando o critério de  
193 Reconhecimento de espécie filogenética através da concordância genealógica  
194 (Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition - GCPSR)  
195 (Dettman et al. 2013, Doyle et al. 2013, Taylor et al. 2010). Um clado foi  
196 considerado uma linhagem independente se atender ao critério da concordância  
197 ou o da não-discordância genealógica.  
198 Os cladogramas foram genealógicamente concordantes se estiverem presentes na maioria  
199 das árvores individuais de MV e IB. O critério da não discordância foi atendido  
200 quando um clado é fortemente suportado em ambas as análises ( $MV \geq 75\%$ ,  $IB \geq$   
201  $0,95$ ) em pelo menos um locus individual, e não ser contradito em nenhum outro  
202 locus no mesmo nível de suporte nas análises de MV e IB.

203

#### 204 **Prevalência das espécies de *Colletotrichum***

205

206 A prevalência (P%) de *Colletotrichum* spp. foi determinada pela fórmula  $P\% =$   
207  $(C_x / C_t) \times 100$ , onde  $C_x$  representa o número de isolados de uma determinada espécie e

208  $C_t$  representa o número total de isolados. Foi calculada a P% geral e por cidades  
209 amostradas.

210

## 211 **Patogenicidade e agressividade**

212

213 A patogenicidade e agressividade das espécies de *Colletotrichum* foram  
214 determinadas através de inoculação em folhas assintomáticas de *B. forficata*.  
215 Inoculações foram realizadas com e sem ferimentos em folhas completamente  
216 desenvolvidas de *B. forficata* com 90 dias de idade. Para obtenção do  
217 inóculo, os isolados foram cultivados em meio de cultura BDA durante 7 dias a 25°C e  
218 fotoperíodo de 12h. Suspensões conidiais foram obtidas pela adição de água  
219 destilada esterilizada (ADE) à superfície das culturas, filtragem em camada dupla  
220 de gaze e ajuste da concentração para  $1 \times 10^6$  conídios/mL. Aliquotas de 10 µl de  
221 suspensão conidial foram depositadas na parte adaxial da folha com e sem  
222 ferimentos, e mantidas a 25°C até a completa secagem do inóculo. Plantas  
223 inoculadas com ADE representaram o controle negativo. Plantas inoculadas  
224 foram mantidas em câmara úmida durante 48 horas e a patogenicidade e  
225 agressividade avaliadas 15 dias após a inoculação. A patogenicidade foi  
226 confirmada através da presença de sintomas. Agressividade entre as espécies foi  
227 comparada através do diâmetro médio das lesões.

228 O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado  
229 com três repetições. Cada repetição foi representada por 1 folha inoculada, com  
230 2 subrepetições (pontos de inoculação). Dados de agressividade das diferentes  
231 espécies de *Colletotrichum* foram submetidos à ANOVA e as médias por  
232 tratamento (espécie) comparadas pelo Teste de Turkey ( $p=0,05$ ) no Statistix 9  
233 (Analytical Software, 2008).

234

## 235 **RESULTADOS**

236

### 237 **Coleta e Isolamento**

238

239 Foi obtido um total de 60 isolados com morfologia característica do  
240 gênero *Colletotrichum*. Trinta isolados foram oriundos da cidade de Recife (PE),  
241 23 isolados de Brasília (DF) e sete isolados de Anagé (BA).



242

## 243 **Análises Filogenéticas e Reconhecimento de Espécies**

244

245 A análise preliminar dos 60 isolados identificou 12 haplótipos diferentes  
246 (H1-H12), 49 foram representados por nove haplótipos (H1 a H9) e as sequências  
247 foram agrupadas a *Colletotrichum siamense* (Figura 3).

248 Dez isolados em dois haplótipos (H10 e H11) agruparam às sequências  
249 de *C. tropicale* e um haplótipos (H12) foi semelhante a *C. fructicola* com  
250 apenas um isolado. Um total de 12 isolados representativos dos haplótipos  
251 foram escolhidos aleatoriamente para o sequenciamento dos demais loci e  
252 análises subsequentes (Figura 3).

253 Os isolados selecionados foram distribuídos entre três clados bem  
254 suportados nas análises multilocus da Máxima verossimilhança (MV) e  
255 Inferência Bayesiana (IB). As árvores multilocus e dos loci  
256 individuais apresentaram topologia semelhantes (Figura 1).

257 Os isolados de *Colletotrichum* de *B. forficata* foram identificados em  
258 três espécies de acordo com o critério GCPSR. Seis isolados foram  
259 agrupados juntamente com o clado *C. siamense* com suporte máximo nas  
260 análises MV e IB multilocus. *Colletotrichum siamense* foi recuperado como  
261 monofilético em todas as árvores genéticas individuais, e foi fortemente  
262 suportado em todas as árvores dos genes individuais (Figura 1).

263 Cinco isolados foram agrupados como clado *C. tropicale* com forte apoio nas  
264 análises multilocus e foram recuperados nas árvores APN2, CAL, GS, TUB e  
265 GAPDH como monofiléticas e fortemente suportado. No gene GAP2, os  
266 isolados se agruparam e formaram um grupo monofilético (Figura 1).

267 Apenas um isolado foi agrupado juntamente com o clado *C.*  
268 *chrysophilum* com alto suporte nas análises multilocus concatenados da MV e  
269 IB. No total, foram isolados 49 representantes de *C. siamense*, dez de *C.*  
270 *tropicale* e um de *C. chrysophilum* pela inferência dos representantes dos  
271 haplótipos (Figura 1).

272

## 273 **Prevalência de espécies de *Colletotrichum*.**

274

275 As espécies apresentaram diferentes valores de prevalência. A

276 prevalência geral foi de *C. siamense* (81.66%), *C. tropicale* (16.66%) e *C.*  
277 *chrysophilum* (1.68%) (Figura 2). *Colletotrichum siamense* foi a espécie mais  
278 prevalente, com os maiores valores em todas as cidades amostradas (Figura  
279 2). *C. chrysophilum* (1.68%) foi restrita a cidade de Recife.

280

### 281 **Teste de Patogenicidade e agressividade**

282

283 Todos os isolados testados produziram sintomas típicos de antracnose  
284 em folhas de *B. forficata*. Sintomas não foram observados no controle negativo.  
285 Houve diferença de agressividade entre as espécies ( $p=0,5$ ). *Colletotrichum*  
286 *siamense* apresentou os maiores valores significativos com diâmetro de 4,99  
287 mm, porém não diferiram significativamente de *C. chrysophilum* com 3,85, já os  
288 menores valores foram de *C. tropicale* com 3,05 mm.

289

### 290 **DISCUSSÃO**

291

292 *Colletotrichum siamense* é relatado em diversas culturas (maçã, pimenta,  
293 café, jasmim, manga, laranja, goiaba, romã, coco, mamão e morango) na  
294 região tropical e subtropical (Lima et al. 2013, Phoulivong et  
295 al. 2010, Sharma et al. 2013, Sharma et al. 2014, Vieira et al. 2014, Weiret al. 2012).  
296 *Colletotrichum siamense* foi anteriormente relatada em *Bauhinia* Índia (Sharma  
297 et al.  
298 2014) e em *B. forficata* subsp. *pruinosa* Argentina (Larran et al. 2015). Este é o prime  
299 iro relato *C. siamense* associado com *Bauhinia forficata* no Brasil.

300 É visto uma ampla gama de hospedeiro a *C. siamense*, além de observar  
301 sobrevivência de *C. siamense* em uma cultura amplamente distribuída e  
302 próxima de regiões agrícolas já que foram obtidos isolados dessa espécie nas  
303 três cidades amostradas. A prevalência de *C. siamense* é associada  
304 principalmente devida sua ampla gama de hospedeiros, reportada em  
305 diversos trabalhos publicados (Lima et al. 2013, Phoulivong et  
306 al. 2010, Sharma et al. 2013, Sharma et al. 2014, Vieira et al. 2014, Weiret al. 2012).

307 *Colletotrichum tropicale* ocorre comumente em diversas florestas da  
308 América do Sul, é uma espécie descrita como endófitica em *Musa* spp. L.,

309 *Mangifera indica* L. e *Theobroma cacao* L., porém há diversos relatos da  
310 espécie ocorrendo de forma patogênica (Lima et al. 2013, Rojas et al. 2010,  
311 Vieira et al. 2014). É a primeira vez que *C. tropicale* é relatado em *B. forficata*  
312 no mundo. Foi a segunda espécie com maior prevalência.

313 *Colletotrichum chrysophilum* (anteriormente descrito com *C. ignotum*) é um  
314 importante agente  
315 causal associado à cultura da banana e do cajueiro (Vieira et al. não publicado, Veloso  
316 et al. não publicado). A associação de *C. chrysophilum* com *B. forficata* é  
317 relatada pela primeira vez neste trabalho. A espécie apresentou uma baixa  
318 prevalência, com ocorrência apenas em Recife.

319 No presente trabalho foram identificadas as espécies *C. siamense*, *C.*  
320 *tropicale* e *C. chrysophilum* causando antracnose em *B. forficata* no Brasil.  
321 Apesar de *B. forficata* ser de pouca importância econômica, são comumente  
322 encontradas próximas de regiões produtoras de manga, banana, coco e  
323 mamão, caju além de ser observado justamente que nestas culturas de valor  
324 comercial há a  
325 ocorrência das mesmas espécies de *Colletotrichum* associadas a *B. forficata* (Vieira et  
326 al. 2014, Lima et al. 2013, Weir et al. 2012).

327 Devido à importância comercial das espécies de plantas cultivadas, e ao  
328 fato dessas culturas serem hospedeiras das mesmas espécies de  
329 *Colletotrichum*, é importante conhecer os agentes causais para investigar se  
330 *B. forficata* está servindo como fonte de inóculo para essas culturas.

331

## 332 **AGRADECIMENTOS**

333

334 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. A  
335 equipe do Laboratório de Micologia da Universidade Federal Rural de  
336 Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

## REFERÊNCIAS

- Analytical Software. Statistix: version 8.0. Tallahassee, 2008. Disponível em: .  
Acesso em: 15 maio 2010.
- Bezerra, J.D.P., Nascimento, C.C.F., Barbosa, R.N., Silva, D.C.V., Svedese, V.M., Silva-Nogueira, E.B., et al. (2014). Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential. *Brazilian J Microbiol* doi:10.1590/S1517-838246120130657
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19:11-15.
- Doyle, V.P., Oudemans, P.V., Rehner, S.A., Litt, A. 2013 – Habitat and host indicate lineage identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s. l. from wild and agricultural landscapes in North America. *PloS One* 8, e62394.
- Guerber, J.C., Liu, B., Correll, J.C., Johnston, P.R. 2003. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia* 95: 872–895.
- 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. 2009. *Colletotrichum* – names in current use. *Fungal Divers*, 39:147–182.
- Katoh K, et al. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 30:3059–3066.

Katoh, K., Toh, H. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in Bioinformatics* 9: 286–298.

Larran, S., J. V. Bahima, G. D. Bello, E. Franco, and P. Balatti.

2015. *Colletotrichum siamense* causing anthracnose in *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* in Argentina. *Australasian Plant Disease Notes* 10:7.

Lima, N.B., Batista, M.V.D.A., De Moraes Jr, M.A., Barbosa, M.A., Michereff, S.J., Hyde, K.D., Câmara, M.P. 2013. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. *Fungal Divers*, 61:75–88.

Lorenzi, H. (2002). *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Plantarum.

Menezes, F.S., Minto, A.B.M., Ruela, H.S., Kuste, R.R.M., Sheridan, H., Frankish, N. (2007). Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. *Rev Bras Farmacogn*, 17(1), 08-13.

Menezes, M. & Assis, S.M.P. 2004. *Guia prático para fungos fitopatogênicos*. 2ª. Ed. Imprensa Universitária. Recife-PE

Miller, M.A., Pfeifer, W., Schwartz, T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees; New Orleans, LA. 1–8.

Nylander, J.A.A. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.

Nylander, J.A.A. 2004. MrMoldeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionay Biology Centre, Uppsala University.

O'Donnell, K., Cigelnik, E. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Mol Phylo Evol* 7:103–116.

Phoulivong, S., Cai, L., Chen, H., McKenzie, E.H.C., Abdelsalam, K., Chukeatirote, E., Hyde, K.D. 2010. *Fungal Diversit*, 44:33-43.

Rambaut, A. 2009. FigTree version 1.3.1 Available: <http://tree.bio.ed.ac.uk>. Accessed novembro 10, 2017.

Rambaut, A., Drummond, A. 2010. TRacer v.1.5. Available at <http://beast.bioed.ac.uk/TRacer>.

Rambaut, A., Drummond, A.J. 2007. Tracer v.1.4. Beast website. Available: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>. Accessed novembro 10, 2017.

Rojas, E.I., Rehner, S.A., Samuels, G.J. 2010. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panama: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. *Mycologia*, 102:1318–1338.

Rojas, E.I., Rehner, S.A., Samuels, G.J., Van, B.S.A., Herre, E.A., et al. 2010. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panama: multilocus phylogenies distinguish pathogen and endophyte clades. *Mycologia* 102: 1318–1338.

Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.

Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.

Sharma, G. & Shenoy, B. D. (2013). *Colletotrichum fructicola* and *C. siamense* are involved in chilli anthracnose in India. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47(10): 1179-1194.

Staden, R., BealJames, Ka.F., Bonfield, K. 1998. The Staden Package. Bioinformatics Methods and Protocols 132:115-130.

Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum Likelihood-based Phylogenetic Analyses with Thousands of Taxa and Mixed Models. Bioinformatics 22: 2688–2690.

Stamatakis, A., Hoover, P., Rougemont, J. 2008. A Fast Bootstrapping Algorithm for the RAxML Web-Servers. Systematic Biology 57: 758–771.

Sutton, B.C. 1980. The *Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute; Kew.

Taylor, J.W., Jacobson, D.J., Kroken, S., Kasuga, T., Geiser, D.M., Hibbett, D.S., Fisher, M.C. 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. Fungal Genet. Biol. 31:21–32.

Vieira, W.A., Michereff, S.J., De Moraes Jr, M.A., Hyde, K.D., Câmara, M.P. 2014. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. Fungal Divers, 67:181–202.

Weir, B.S., Johnston, P.R., Damm, U. 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. Stud Mycol, 73:115–180.

Tabela 1. Lista dos isolados de *Colletotrichum* usados no trabalho com as informações dos isolados: hospedeiro, localização e número de acesso ao GenBank das sequências dos genes GAPDH, GAP2, TUB2, GS, APN2-Mat/IGS e APN2.

ESPÉCIES	NÚMERO DE ACESSO	HOSPEDEIRO	LOCALIDADE	ACESSO GENBANK						
				GAPDH	GAP2	TUB2	CAL	GS	APN2-Mat/IGS	APN2
<i>C. aenigma</i>	ICMP 18608*	<i>Persea americana</i>	Israel	JX010044	-	JX010389	JX009683	JX010078	KM360143	-
<i>C. aenigma</i>	ICMP 18686	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Japão	JX009913	-	JX010390	JX009684	JX010079	-	-
<i>C. alienum</i>	ICMP12071*	<i>Malus domestica</i>	Nova Zelândia	JX010028	-	JX010411	JX009654	JX010101	KM360144	-
<i>C. alienum</i>	ICMP 18621	<i>Persea americana</i>	Nova Zelândia	JX009959	-	JX010386	JX009657	JX010075	-	-
<i>C. asianum</i>	IMI313839	<i>Mangifera indica</i>	Austrália	JX009915	-	JX010384	JX009723	JX010073		-
<i>C. asianum</i>	CBS130418*	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	JX010053	-	JX010406	FJ917506	JX010096	FR718814	-
<i>C. chrsophilum</i>	CMM4268	<i>Musa sp.</i>	Brasil	KX094183	KX094125	KX094018	KX094063	KX094204	KX094325	KX094285
<i>C. chrsophilum</i> (syn. <i>C. ignotum</i> )	E183*	<i>Genipa americana</i>	Panamá	KX094178	KX094128	GU994472	KX094058	KX094208	GU994443	GU994414
<i>C. chrsophilum</i> (syn. <i>C. ignotum</i> )	8395	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	KX094176	KX094126	GU994473	KX094056	KX094209	GU994444	GU994415
<i>C. chrsophilum</i> (syn. <i>C. ignotum</i> )	Coll919	<i>Torreya taxifolia</i>	Porto Rico	KX094177	KX094127	KX094288	KX094057	KX094207	JX145317	JX145265
<i>C. chrsophilum</i>	PE8	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							
<i>C. endophytica</i>	MFLUCC 130417 , LC1216	<i>Pennisetum purpureum</i>	Tailândia	KC832853	-	-	KC810017	-	-	-
<i>C. endophytica</i>	MFLUCC 130418, LC0324*	<i>Pennisetum purpureum</i>	Tailândia	KC832854	-	-	KC810018	-	-	-
<i>C. fragariae</i>	CBS142.31*	<i>Fragaria vesca</i>	USA	JN937006	-	JX010373	JX009592	JX010064	JQ807844	-
<i>C. fragariae</i>	BRA5	<i>Coffea sp.</i>	Brasil	FR718801	-	FR719885	-	FR719907	-	-
<i>C. fragariae</i>	BRA8	<i>Coffea sp.</i>	Brasil	FR718802	-	FR719886	-	FR719908	-	-



<i>C. fruticola</i>	CBS130416*	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	JX010033	-	JX010405	FJ917508	JX010095	JQ807838	-
<i>C. fruticola</i>	GM567	<i>Mangifera indica</i>	Índia	JQ894630	-	JQ894600	KC790787	-	JQ894576	-
<i>C. fruticola</i>	1087	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	KX094174	KX094121	KX094279	KX094066	KX094198	GU994438	GU994409
<i>C. fruticola</i>	3589	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	KX094175	KX094122	KX094280	KX094067	KX094199	GU994440	GU994411
<i>C. fruticola</i>	CollP1	<i>Vaccinium corymbosum</i>	USA	-	-	JX145223	-	-	JX145316	JX145273
<i>C. fruticola</i> (syn. <i>C. ignotum</i> )	CBS125397*	<i>Tetragastris panamensis</i>	Panamá	JX010032	-	GU994470	JX009674	JX010099	GU994441	GU994412
<i>C. gloeosporioides</i>	CBS112999*	<i>Citrus sinensi</i>	Itália	JX010056	-	JX010445	JX009731	JX010085	JQ807843	GU994416
<i>C. gloeosporioides</i>	CORCG5	<i>Vanda</i> sp.	China	KJ954828	-	KJ955875	KJ954680	KJ954978	KJ954541	-
<i>C. grevilleae</i>	CPC 15481	<i>Grevillea</i> sp.	USA	KC297010	-	KC297102	KC296963	KC297033	-	-
<i>C. horii</i>	ICMP18649	<i>Diospyros kaki</i>	Japão	GQ329681	-	JX010450	JX009604	JX010137	JQ807840	-
<i>C. musae</i>	CBS116870	<i>Musa</i> sp.	USA	JX010050	-	HQ596280	JX009742	JX010084	KC888926	-
<i>C. musae</i>	CMM4423	<i>Musa</i> sp.	Brasil	KX094195	KX094119	KX094294	KX094028	KX094231	KX094328	KX094328
<i>C. queenslandicum</i>	ICMP 1778*	<i>Carica papaya</i>	Austrália	JX009934	-	JX010414	JX009691	JX010104	KC888928	-
<i>C. queenslandicum</i>	ICMP 18705	<i>Coffea</i> sp.	Fiji	JX010036	-	JX010412	JX009694	JX010102	-	-
<i>C. salsolae</i>	ICMP19051	<i>Salsola tragus</i>	Hungria	JX009916	-	JX010403	JX009696	JX010093	KC888925	-
<i>C. siamense</i>	CBS130417*	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	JX009924	-	JX010404	FJ917505	JX010094	JQ899289	-
<i>C. siamense</i>	CMM4247	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KX094155	KX094141	KX094261	KX094038	KX094196	KX094301	KX094009
<i>C. siamense</i>	CMM4248	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KX094154	KX094136	KX094300	KX094037	KX094229	KX094314	KX093992
<i>C. siamense</i>	PV5	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							
<i>C. siamense</i>	IBS2	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							
<i>C. siamense</i>	PE22	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							
<i>C. siamense</i>	UNB8	<i>Bauhinia</i>	Brasil							

		<i>forficata</i>								
<i>C. siamense</i>	PE23	<i>Bauhinia</i>	Brasil							
		<i>forficata</i>								
<i>C. siamense</i>	IBS6	<i>Bauhinia</i>	Brasil							
		<i>forficata</i>								
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. communis</i> )	MTCC11596	<i>Mangifera indica</i>	Índia	KF452016	-	KF452029	KF451953	-	KC790720	-
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. communis</i> )	MTCC11599*	<i>Mangifera indica</i>	Índia	JQ894632	-	JQ894602	KC790791	-	JQ894582	-
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. dianesei</i> )	CMM4085*	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KX094156	KX094144	KX094268	KX094044	KX094216	KX094304	KX093995
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. dianesei</i> )	CMM4083	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KX094167	KX094147	KX094271	KX094052	KX094219	KX094307	KX093998
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. dianesei</i> )	CMM4084	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KX094166	KX094148	KX094272	KX094053	KX094220	KX094310	KX093999
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. endomangiferae</i> )	CMM3814*	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KC702955	-	KM404170	KC992372	-	KJ155453	-
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. endomangiferae</i> )	CMM3740	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KC702954	-	KM404169	KC992371	-	KJ155452	-
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. hymenocallidis</i> )	ICMP18642*	<i>Hymenocallis americana</i>	China	JX010019	-	JX010410	JX009709	JX010100	JQ807842	-
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. melanocaulo</i> )	CBS133251*	<i>Vaccinium macrocarpon</i>	USA	KX094187	KX094134	KX094290	KX094036	KX094228	JX145213	JX145247
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. melanocaulo</i> )	CBS133123	<i>Vaccinium macrocarpon</i>	USA	KX094186	KX094135	KX094289	KX094035	KX094227	JX145309	JX145245
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. murrayae</i> )	GZAAS5.09506*	<i>Murraya</i> sp.	China	JQ247609	-	JQ247644	JQ247596	JQ247621	-	-
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. murrayae</i> )	GZAAS5.09538	<i>Murraya</i> sp.	China	JQ247608	-	JQ247645	JQ247597	JQ247620	-	-
<i>C. siamense</i> (syn. <i>C. jasmini-sambac</i> )	ICMP19118*	<i>Jasminum sambac</i>	Vietnã	HM131497	-	JX010415	-	-	JQ807841	-
<i>C. theobromicola</i>	CBS124945*	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	JX010006	-	JX010447	JX009591	JX010139	KC790726	GU994419
<i>C. theobromicola</i>	GJS0843	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá		-				GU994447	GU994418
<i>C. tropicale</i>	CBS124949*	<i>Theobroma</i>	Panamá	JX010007	-	GU994454	JX009719	JX010097	GU994425	GU994396

<i>cacao</i>										
<i>C. tropicale</i>	CMM3767	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KC702960	-	KC992345	KC992378	-	KJ155464	-
<i>C. tropicale</i>	Coll918	<i>Terpsichore taxifolia</i>	Porto Rico	-	-	JX145214	-	-	JX145307	JX145264
<i>C. tropicale</i>	PE10	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							
<i>C. tropicale</i>	PV3	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							
<i>C. tropicale</i>	UNB2	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							
<i>C. tropicale</i>	PV2	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							
<i>C. tropicale</i>	PE1	<i>Bauhinia forficata</i>	Brasil							

<sup>a</sup>CMM: Culture Collection of Phytopathogenic Fungi “Prof. Maria Menezes”, Recife Brazil; CBS Culture Collection of the Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands; ICMP International Collection of Microorganisms from Plants, Landcare Research, Auckland, New Zealand; GZAAS Guizhou Academy of Agricultural Sciences herbarium, China; MTCC Microbial Type Culture Collection and Gene Bank, Chandigarh, India; MFLUCC: Mae Fae Luang University Culture Collection, ChiangRai, Thailand; CPC: Working collection of Pedro W. Crous, housed at CBS, The Netherlands;

\*ex-type culture.

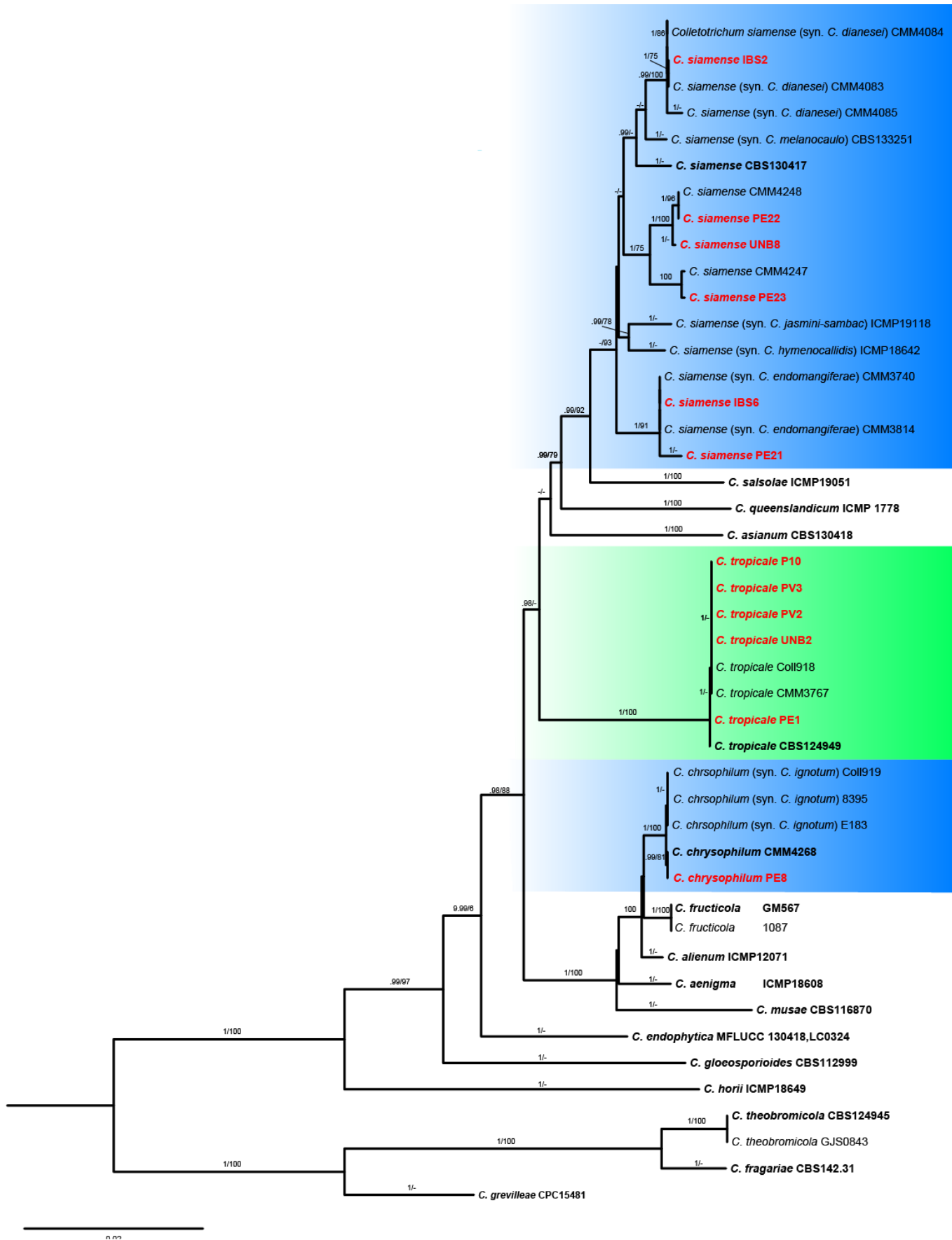
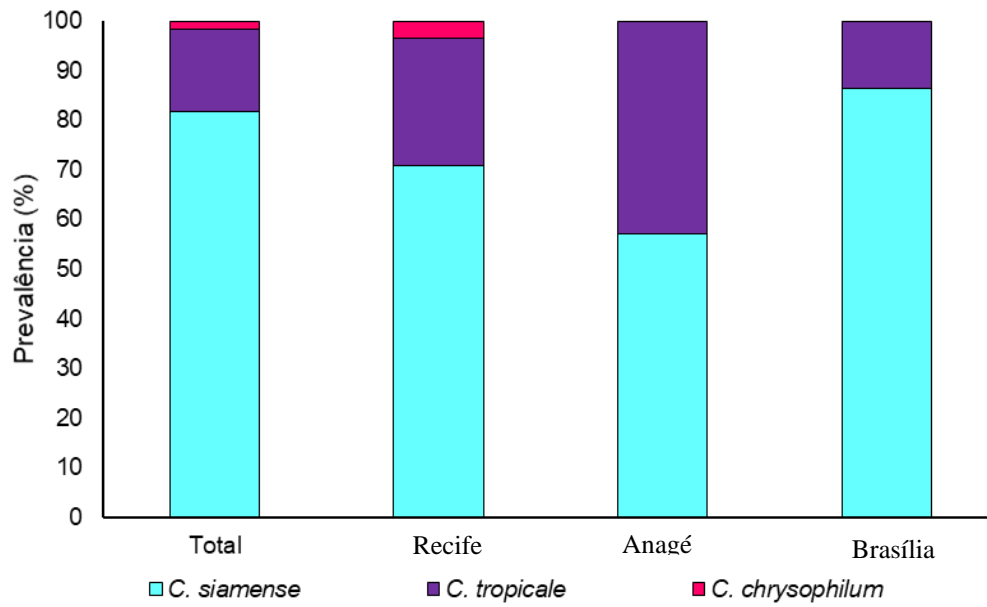


Figura 1. Árvore da Máxima verossimilhança de espécies do complexo *Colletotrichumgloeosporioides* inferidas por meio da concatenadas dos alinhamentos dos genes APN2, APN2-Mat/IGS, GAPDH, GAP2, GS e TUB. Os valores de suporte de bootstrap (MV $\geq$  70) e os valores de probabilidade posterior IB (PP $\geq$ 0.95) são mostrados nos nós. *Colletotrichum theobromicola*, *C. fragariae* e *C. grevilleae* foram usados como outgroup.



Figura 2. Prevalência dos isolados de *Colletotrichum* associado a antracnose a *Bauhiniaforficata*.



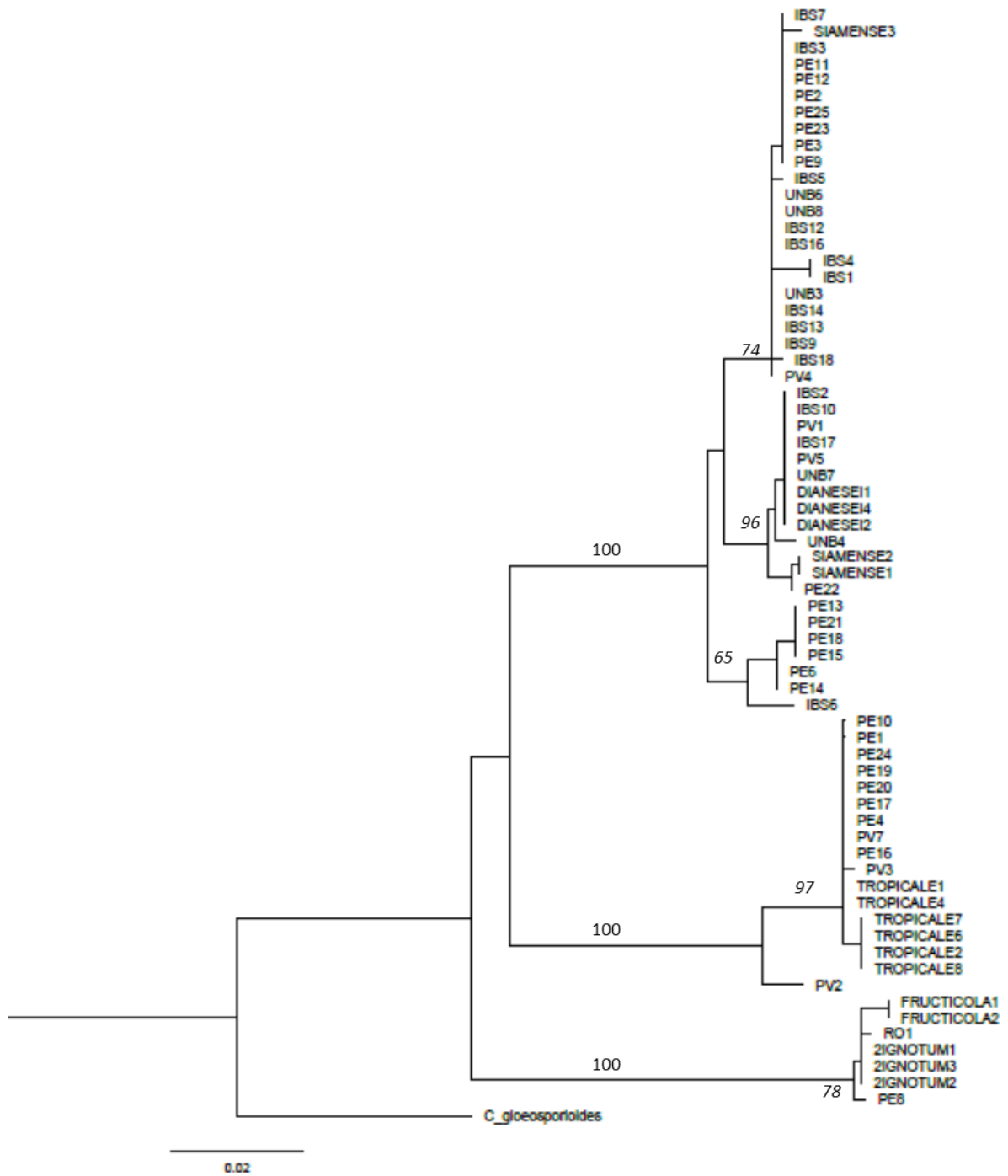


Figura 3. Árvore filogenética da máxima verossimilhança da região Apmat de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos em *B. forficata*.

## **Conclusões Gerais**

---

---



## CONCLUSÕES GERAIS

- Três espécies de *Colletotrichum* estão associadas à antracnose em *B. forficata* no Brasil;
- Este é o primeiro relato de antracnose em *B. forficata* no Brasil;
- Primeiro relato de *C. tropicale* e *C. chrysophilum* no gênero *Bauhinia* no mundo.
- Diferentes espécies de *Colletotrichum* diferem quanto ao nível de agressividade em plantas de pata-de-vaca.
- Recife é a cidade com maior diversidade de espécies de *Colletotrichum* associadas em *B. forficata*.