

Isolamento e caracterização morfológica de espécies do gênero *Colletotrichum* spp.

Gabrieli Vitoria Trisnoski | gabrieli.vt@aluno.ifsc.edu.br¹
Thiago de Lima | thiago.l21@aluno.ifsc.edu.br¹
Juliana Camargo Freitas | juliana.cf25@aluno.ifsc.edu.br¹
Cícero Venancio Nunes | cicero.junior@ifsc.edu.br²
João Paulo Pereira Paes | joao.paes@ifsc.edu.br²
Eduardo Henrique Goulin | eduardo.goulin@ifsc.edu.br²

Trabalho de Pesquisa
DT 2 - Meio Ambiente, Agroindústrias, Territórios e Sustentabilidade Socioambiental

Resumo:

O gênero *Colletotrichum* spp. é o causador da antracnose em diversas culturas e apresenta alta plasticidade fenotípica. Devido a essa complexidade, objetivou-se isolar e caracterizar morfológicamente isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de frutos sintomáticos de morango (*Fragaria × ananassa*), uva (*Vitis* spp.) e maracujá (*Passiflora edulis*), como etapa inicial para subsidiar a posterior identificação molecular das espécies. Para isso, fragmentos dos tecidos lesionados foram cultivados em meio BDA a 25 °C. A partir da obtenção de culturas puras monospóricas, avaliaram-se as características macroscópicas das colônias e a morfologia microscópica dos conídios. Os resultados revelaram que isolados de morango e uva possuem crescimento uniforme e características visuais semelhantes, indicando uma possível infecção cruzada. Em contrapartida, os isolados de maracujá exibiram maior variabilidade morfológica e crescimento irregular. Portanto, embora a análise morfológica identifique a presença e a diversidade do patógeno, a elevada plasticidade do gênero torna a caracterização molecular indispensável para a identificação precisa das espécies.

Palavras-chave: *Colletotrichum* spp.; caracterização morfológica; Antracnose; fungos fitopatogênicos .

¹ Estudante do curso de Agronomia do IFSC Campus Canoinhas.

² Servidor do Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC).

Introdução

O gênero *Colletotrichum* spp. é reconhecido como um dos grupos de fungos fitopatogênicos mais importantes e frequentemente relatados em todo o mundo. É o agente etiológico da antracnose, uma doença que afeta uma grande variedade de plantas, causando danos severos em diversas culturas de importância econômica (Dean et al., 2012), sendo caracterizada pela indução de lesões necróticas circulares deprimidas que comprometem a integridade de folhas, ramos e frutos. Sob condições de elevada umidade, evolui para a exsudação de massas mucilaginosas de conídios, cujas tonalidades variam entre o alaranjado, salmão e rosado sobre os tecidos afetados. Devido à sua agressividade e capacidade de causar infecções quiescentes, o fungo estabelece uma estratégia biológica onde permanece latente, manifestando-se de forma explosiva apenas quando o fruto atinge a maturação. Essa característica torna a antracnose uma ameaça silenciosa, capaz de comprometer a produção desde o campo até a fase de pós-colheita, resultando, em casos extremos, na perda total da produção (Garrido; Gava., 2014; Halfeld-Vieira; Nechet; Mattioni., 2007; Costa; Reis., 2011).

A arquitetura biológica do gênero revela uma complexidade que desafia a taxonomia clássica. Frequentemente, observa-se a coexistência de múltiplas espécies em um único hospedeiro, enquanto uma única espécie pode demonstrar versatilidade entre diversas culturas (Freeman; Katan; Shabi., 1998). Essa plasticidade torna a identificação precisa das espécies fundamental para o delineamento de estratégias de controle eficazes e suporte ao melhoramento genético. Diante disso o presente trabalho teve como objetivo realizar o isolamento e caracterização morfológica de espécies do gênero *Colletotrichum* spp. associadas a frutos de morango (*Fragaria x ananassa*), uva (*Vitis* spp.) e maracujá (*Passiflora edulis*).

Fundamentação teórica

As espécies pertencentes ao gênero *Colletotrichum* spp. são marcadas por uma notável adaptabilidade, manifestada pela capacidade de infecção cruzada e pela complexidade das interações estabelecidas com seus hospedeiros. A compreensão da patogenia desse gênero revela um cenário no qual a premissa de especificidade estrita

por hospedeiro é contestada pela evidência de que uma única linhagem fúngica pode infectar múltiplos hospedeiros de relevância econômica. Simultaneamente, observa-se o fenômeno da coexistência taxonômica, em que mais de uma espécie do patógeno convergem para causar danos em uma única cultura agrícola (Freeman; Katan; Shabi, 1998).

No sistema produtivo do morango, a origem da doença antracnose está frequentemente vinculada a complexos genéticos que envolvem espécies como *C. nymphaeae*, *C. godetiae* e *C. fiorinae* (Damm et al., 2012; Rose; Damm., 2024). Fenômeno semelhante de agressividade é observado na cultura do maracujazeiro, onde o patógeno *C. brevisporum* tem provocado perdas econômicas severas ao colonizar hastes, folhas, gavinhas e frutos, somando-se ainda à ocorrência de *C. boninense* e *C. capsici* em fases de pós-colheita (Du et al., 2017). Paralelamente, na viticultura, a problemática é desencadeada por espécies como *C. fructicola* e *C. viniferum* (Echeverrigaray et al., 2020).

A identificação morfológica, aliada ao isolamento *in vitro*, constitui a etapa inicial indispensável para o estudo de fitopatógenos. Entretanto, embora essa análise seja essencial para o reconhecimento superficial, a delimitação precisa de suas espécies demanda a integração de dados moleculares. Tal necessidade decorre da existência de semelhança fenotípica entre algumas das espécies e da elevada plasticidade do gênero, em que traços diagnósticos tradicionais podem variar conforme as condições ambientais (Damm et al., 2012).

Procedimentos metodológicos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitossanidade do Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC), Câmpus Canoinhas. Foram utilizados frutos de morango, uva e maracujá, provenientes de diferentes localidades do município, os quais apresentavam lesões sintomáticas características da doença antracnose.

Visando o isolamento do fitopatógeno, fragmentos de tecidos lesionados foram submetidos à assepsia superficial. O procedimento envolveu a imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,3% por 3 minutos, seguida de álcool 70% por 30 segundos e dois enxágues sucessivos em água destilada estéril. Posteriormente, os fragmentos foram

transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). As placas foram mantidas em câmara de crescimento (B.O.D.) sob escuro contínuo, à temperatura constante de 25 °C, por dois dias. As estruturas fúngicas desenvolvidas a partir das áreas necróticas foram repicadas para novas placas. A obtenção de colônias puras ocorreu por meio da técnica de cultura monospórica, baseada no isolamento de um único esporo (Fernandez., 1993).

Quanto à análise microscópica dos esporos, prepararam-se lâminas utilizando o corante azul de algodão com lactofenol. A visualização e a identificação das estruturas reprodutivas foram realizadas sob microscopia óptica, com objetivas em aumento de 40X.

Para a caracterização morfológica, hifas da borda de crescimento das colônias puras foram transferidas, com o auxílio de uma alça de inoculação, para o centro de placas com meio BDA. Após incubação por 7 dias a 25 °C, analisaram-se a coloração da colônia, o aspecto do micélio e o formato dos esporos.

Resultados e discussões

Ao final do processo, foram obtidos 11 isolados, cujos parâmetros morfológicos analisados se encontram detalhados no Quadro 1. Observou-se que os isolados de morango (CMO) e videira (CUV) exibiram padrões semelhantes de desenvolvimento *in vitro*, caracterizados por crescimento micelial radial vigoroso e uniforme, textura cotonosa moderada e coloração predominantemente branco-acinzentada na face superior com tons de rosa a salmão no reverso. Na análise micromorfológica, os fungos destes dois hospedeiros apresentaram conídios predominantemente alongados com ápice arredondado. Em contrapartida, os isolados de maracujá (CMA) demonstraram maior heterogeneidade, com crescimento irregular, micélio visivelmente mais denso e abundante, além de notáveis variações na pigmentação e diversidade na morfologia conidial, englobando desde formatos alongados até fusiformes com extremidades agudas. Em todos os casos, a identidade genérica foi confirmada pela visualização de massas de conídios alaranjadas, típicas do patógeno.

Quadro 1 – Características morfológicas dos isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de diferentes hospedeiros.

Isolado	Hospedeiro	Cor sup. Colônia	Cor inf. Colônia	Textura do micélio	Conídios
CMO-01	Morango	Branco	Rosa	Cotonoso	Alongado, ápice arredondado
CMO-02	Morango	Branco	Rosa	Cotonoso	Alongado, ápice arredondado
CMO-03	Morango	Branco-acinzentado	Rosa	Cotonoso	Alongado, ápice arredondado
CMO-04	Morango	Branco-acinzentado	Salmão	Cotonoso	Alongado, ápice arredondado
CMO-05	Morango	Branco-acinzentado	Oliva	Cotonoso	Alongado, ápice agudo
CMO-06	Morango	Branco-acinzentado	Oliva	Cotonoso	Alongado, ápice agudo
CUV-01	Uva	Branco	Salmão	Cotonoso	Alongado, ápice arredondado
CUV-02	Uva	Branco	Salmão	Cotonoso	Alongado, ápice arredondado
CMA-01	Maracujá	Centro amarelo a salmão e bordas brancas	Laranja a salmão	Cotonoso denso	Alongado, ápice arredondado
CMA-02	Maracujá	Branco	Laranja a amarelo	Cotonoso denso	Fusiforme, extremidades arredondadas
CMA-03	Maracujá	Amarelo com extremidades brancas	Anéis castanho-alaranjados	Cotonoso denso	Fusiforme, extremidades agudas

Fonte: elaborada pelos autores.

Essa notável sobreposição fenotípica, em especial entre os isolados de morango e uva, corrobora relatos da literatura sobre a capacidade de infecção cruzada de *Colletotrichum* (Freeman; Katan; Shabi, 1998). Entretanto, devido à extrema plasticidade do gênero e à influência ambiental sobre os traços diagnósticos clássicos, a determinação exata das espécies exige a complementação desses dados com análises filogenéticas multigênicas.

Considerações finais

O estudo confirmou a presença de *Colletotrichum* spp. nos frutos analisados, evidenciando uma significativa variabilidade morfológica entre os isolados. A semelhança entre os isolados de morango e uva reforça a possibilidade de infecção cruzada na região. Portanto, embora a caracterização morfológica identifique o gênero, a complexidade e a plasticidade do patógeno tornam a análise molecular indispensável para a identificação precisa das espécies. Este estudo estabelece a base para a caracterização genética subsequente, cujos resultados consolidados serão apresentados no dia do evento.

Referência ao fomento recebido

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina (IFSC) - Câmpus Canoinhas pelo espaço concedido em especial ao laboratório de Fitossanidade.

Referências

DAMM, U. et al. The *Colletotrichum* acutatum species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 37-113, set. 2012.

DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.

DU, Yi-Xin et al. Identification of *Colletotrichum brevisporum* causing anthracnose on passion fruit. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 39, n. 4, p. 527-532, set. 2017.



ECHEVERRIGARAY, S. et al. *Colletotrichum* species causing grape ripe rot disease in *Vitis labrusca* and *V. vinifera* varieties in the highlands of southern Brazil. **Plant Pathology**, v. 69, p. 1504-1512, 2020.

FERNANDEZ, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993.

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

GARRIDO, L. R.; GAVA, R. **Manual de Doenças Fúngicas da Videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2014.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L.; MATTIONI, J. A. M. **Doenças do maracujá no Estado de Roraima**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2007.

REIS, A.; COSTA, H. **Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2011.

ROSE, C.; DAMM, U. Diversity of *Colletotrichum* species on strawberry (*Fragaria × ananassa*) in Germany. **Phytopathologia Mediterranea: The international journal of the Mediterranean Phytopathological Union**.v. 63, n. 2, ago. 2024.