**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Caracterização, transmissão, reação de cultivares e sensibilidade a fungicidas de *Colletotrichum plurivorum* associado à antracnose da soja

Renata Rebellato Linhares de Castro

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba
2018**

Renata Rebellato Linhares de Castro
Engenheira Agrônoma

**Caracterização, transmissão, reação de cultivares e sensibilidade a fungicidas de
Colletotrichum plurivorum associado à antracnose da soja**

Orientador:
Prof. Dr. **NELSON SIDNEI MASSOLA JÚNIOR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra
em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Castro, Renata Rebellato Linhares de

Caracterização, transmissão, reação de cultivares e sensibilidade a fungicidas de *Colletotrichum plurivorum* associado à cultura da soja / Renata Rebellato Linhares de Castro - - Piracicaba, 2018.

94 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Análise filogenética 2. Controle químico 3. *Glycine max* 4. *Colletotrichum truncatum* I. Título

Aos meus pais,

Agassiz Linhares Neto e Maria Angélica Rebellato Linhares,

Por todo amor, dedicação, incentivo e confiança desde sempre. Por nunca cessarem esforços em me permitir viver essa e todas as demais etapas que já fomos vitoriosos. Pela educação e princípios ensinados que formaram meu caráter!

À minha irmã,

Bruna Rebellato Linhares,

Pela amizade, amor e companheirismo. Por todas as viagens que fez para diminuir a distância quando a saudade era difícil de enfrentar!

Ao meu marido,

Saulo Augusto Quassi de Castro

Pelo companheirismo em todos os momentos, amor, incentivo nas horas mais difíceis e pela dedicação em tornar essa batalha possível de ser vencida.

Não há como explicar o quanto significam para mim e o amor que tenho por vocês!

Dedico!

“A humildade é o primeiro degrau para a sabedoria”.

São Tomás de Aquino

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus e Nossa Senhora, por serem meus guias e protetores nessa caminhada, fonte de força e consolo. Obrigada pelo dom da vida e por intercederem sempre pela minha felicidade.

À toda minha família, pais, irmã, marido, sogros, cunhados, sobrinha, avós, tios e primos, agradeço pelo apoio incondicional, amizade, incentivo, compreensão e amor.

Ao meu marido Saulo Augusto Quassi de Castro, pelo amor e companheirismo, por ser sempre meu melhor amigo e incentivador. Pelo auxílio nos trabalhos e por permanecer ao meu lado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de mestrado concedida.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ-USP), pelos nove anos de ensinamentos e oportunidades.

Ao Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP, todos os professores e funcionários, por todos os ensinamentos, amizade, pela oportunidade e condições oferecidas.

Ao Prof. Dr. Nelson Sidnei Massola Júnior, pela oportunidade, paciência, orientação, confiança, amizade e incentivo.

À Dra. Maria Heloísa Duarte de Moraes, à quem tenho enorme carinho e admiração. Agradeço pelos ensinamentos e por ter despertado em mim o interesse pela fitopatologia. Obrigada pelo carinho, dedicação, apoio e amizade.

À Dra. Maisa Ciampi Guillard, pelo apoio, ensino e auxílio em todas as etapas.

À Flávia Rogério, pelos ensinamentos desde os primeiros dias sobre biologia molecular, pela paciência e dedicação.

Aos amigos e colegas do laboratório de fungos fitopatogênicos: Thaís Boufleur, Flávia Rogério, Renata Brito, Ricardo Felipini e Vanessa Vargas, pela amizade, por todos os ensinamentos e auxílio nas horas que parecia impossível encontrar soluções aos problemas.

Ao André Bueno Gama, Ricardo Feliciano e Sílvia Lourenço, pelo auxílio e ensinamentos nos testes com fungicidas.

À todos os colegas e amigos de departamento, pelo apoio, conversas e momentos de descontração. Em especial aos grandes amigos que a pós me deu como padrinhos, Sarah Galvão e Leonardo Miranda.

E a todas as pessoas que de alguma forma, direta ou indiretamente, me acompanharam e auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho e colaboraram para minha formação.

À todos, meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

Caracterização, transmissão, reação de cultivares e sensibilidade a fungicidas de

Colletotrichum plurivorum associado à antracnose da soja

A cultura da soja tem grande importância na segurança alimentar mundial, sendo o Brasil o segundo maior produtor do grão. Dentre os fatores que afetam a produção da cultura, as doenças se destacam e uma das principais é a antracnose. Diferentes espécies de *Colletotrichum* têm sido relacionadas à antracnose da soja, como *C. truncatum*, geralmente reportado como o principal agente causal da doença, e o *C. plurivorum*, anteriormente nomeado *C. cliviae*, uma espécie recentemente descrita e associada ao patossistema. Desta forma, objetivou-se caracterizar de forma filogenética, morfológica e cultural a espécie *C. plurivorum* comparando-a com *C. truncatum*; comparar a agressividade e a capacidade de transmissão semente-planta e planta-semente entre *C. plurivorum* e *C. truncatum* na cultura da soja; testar a reação de diferentes cultivares de soja a *C. plurivorum*; e verificar a sensibilidade *in vitro* de *C. plurivorum* a fungicidas registrados no Brasil para controle da doença. Baseado na análise filogenética Bayesiana, os isolados anteriormente chamados de *C. cliviae* foram reclassificados como *C. plurivorum*, agrupando-se juntamente com novos isolados de coletas recentes. Um isolado foi classificado como *C. musicola*, primeiro relato desta espécie isolada de planta sintomática de soja. Os isolados de *C. plurivorum* apresentaram taxas de crescimento micelial maior do que os de *C. truncatum*, enquanto que a esporulação dos isolados da segunda espécie foi superior aos da primeira. No teste de comparação de agressividade, o isolado de *C. truncatum* se mostrou mais agressivo do que os isolados de *C. plurivorum* à cultivar AMS Tibagi, após inoculações com suspensões de esporos no estágio de crescimento V2-V3. No teste de transmissão semente-planta, as taxas de transmissão de *C. plurivorum* e de *C. truncatum* da semente para a planta variaram entre 37% e 79%. Não foi observada transmissão dos patógenos para os grãos em teste de sanidade quando as plantas foram inoculadas nos estágios R2 e R5, além de não afetarem a produção de vagens e grãos. No teste de reação de cultivares de soja a *C. plurivorum*, a AMS Tibagi foi a que apresentou maior resistência, enquanto que as demais cultivares avaliadas foram afetadas significativamente nos parâmetros de qualidade fisiológica avaliados. Nas avaliações de sensibilidade a fungicidas, isolados de *C. plurivorum* e *C. musicola*, apresentaram insensibilidade, baixa ou média sensibilidade aos fungicidas trifloxistrobina e piraclostrobina. Para esses mesmos fungicidas, os isolados de *C. truncatum* e *C. sojae* foram classificados como altamente sensíveis (CE₅₀ menor que 1 µg mL⁻¹). Os isolados de *C. plurivorum* e *C. musicola* apresentaram a mutação E198A no gene da beta-tubulina, que confere resistência ao tiofanato-metílico, enquanto que os isolados de *C. truncatum* foram considerados altamente sensíveis ao produto e não apresentaram a mutação no gene analisado. Isolados de *C. plurivorum* e de *C. truncatum*, avaliados no teste de inibição do crescimento micelial, foram considerados altamente sensíveis aos fungicidas difenoconazol e fludioxonil. Identificar e conhecer as características das espécies *Colletotrichum* que afetam uma das principais *commodities* do Brasil é fundamental para entender a epidemiologia da doença e obter sucesso no desenvolvimento de estratégias de controle mais eficientes.

Palavras-chave: Análise filogenética; Controle químico; *Glycine max*; *Colletotrichum truncatum*

ABSTRACT

Characterization, transmission, reaction of cultivars and sensitivity to fungicide of

Colletotrichum plurivorum associated with soybean anthracnose

Soybean cultivation has great importance in world food security with Brazil being the second largest grain producer. Among the factors that affect crop production, diseases stand out and one of the main ones is anthracnose. Different species of *Colletotrichum* have been related to soybean anthracnose, such as *C. truncatum*, generally reported as the main causal agent of the disease, and *C. plurivorum*, previously named *C. cliviae* and a recently described pathosystem associated species. The aim of this work was to characterize in a phylogenetic, morphological and cultural way the species *C. plurivorum* comparing it with *C. truncatum*; to compare the aggressiveness and seed-plant and plant-seed transmission capacity between *C. plurivorum* and *C. truncatum* in soybean cultivation; to test the reaction of different soybean cultivars to *C. plurivorum*; and to verify *C. plurivorum* *in vitro* sensitivity to fungicides registered in Brazil for disease control. Based on Bayesian phylogenetic analysis, the strains previously called *C. cliviae* were reclassified as *C. plurivorum*, grouped together with new strains from recent collections. One strain was classified as *C. musicola*, the first report of this species on soybean symptomatic plant. The *C. plurivorum* strains had higher mycelial growth rates than those of *C. truncatum*, whereas the sporulation of the second species was superior. *C. truncatum* was more aggressive than *C. plurivorum* to the AMS Tibagi cultivar after inoculations with spore suspensions at the V2-V3 growth stage. In the seed-plant transmission test, *C. plurivorum* and *C. truncatum* transmission rates from the seed to the plant varied between 37% and 79%. Transmission of the pathogens to the grains was not observed when the plants were inoculated in stages R2 and R5, besides not affecting the production of pods and grains. Among the tested cultivars, ‘AMS Tibagi’ showed the highest resistance to *C. plurivorum*, while the other cultivars were significantly affected in the physiological quality parameters. *C. plurivorum* and *C. musicola* strains showed insensitivity, low or medium sensitivity to trifloxystrobin and pyraclostrobin fungicides. For these same fungicides, *C. truncatum* and *C. sojae* strains were classified as highly sensitive (EC_{50} less than $1 \mu\text{g mL}^{-1}$). *C. plurivorum* and *C. musicola* strains showed the E198A mutation in the beta-tubulin gene, which confers resistance to thiophanate-methyl, whereas *C. truncatum* strains were considered highly sensitive to this fungicide and did not present the mutation in the beta-tubulin gene. *C. plurivorum* and *C. truncatum* strains were considered highly sensitive to difenoconazol and fludioxonil fungicides. Identifying and knowing the characteristics of the *Colletotrichum* species that affect one of the main commodities in Brazil is fundamental to understand the epidemiology of the disease and to succeed in the development of more efficient control strategies.

Keywords: Phylogenetic analysis; Chemical control; *Glycine max*; *Colletotrichum truncatum*

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

mm	milímetro(s)
m	metro(s)
RPM	rotações por minuto
BDA	batata-dextrose-ágar
PCR	reação em cadeia da polimerase
DNA	ácido desoxirribonucleico
s	segundo(s)
min	minuto(s)
h	hora(s)
μL	microlitro(s)
mL	mililitro(s)
L	litro(s)
ng	nanograma(s)
g	grama(s)
kg	quilograma(s)
ton	tonelada(s)
μM	micromolar
mM	milimolar
U	unidade(s)
ha	hectare(s)
°C	graus Celsius

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é uma das mais importantes para a segurança alimentar mundial. O Brasil é o segundo maior produtor de soja no mundo, atrás apenas dos Estados Unidos, e seguido pela Argentina. Na safra 2016/17, esses três países foram os responsáveis por mais de 81% da produção mundial de soja, a qual foi superior a 351 milhões de ton (Food and Agricultural Organization of the United Nations - FAOSTAT, 2017).

A cultura tem um papel importante na geração de empregos, além de ser responsável por um grande fluxo de exportações, o que reflete positivamente na balança comercial brasileira. A produção foi impulsionada nos estados do sul do país com o início do cultivo sucessivo trigo/soja e teve crescimento na região do Brasil Central nos anos 70 e 80 (COSTA, 1996; MIYASAKA; MEDINA, 1981). Hoje, os principais estados produtores são Mato Grosso (27,1%), Paraná (16,1%), Rio Grande do Sul (14,4%), Goiás (9,9%) e Mato Grosso do Sul (8%), dados relativos à safra de 2017/2018, em que a produção nacional foi de 119,28 milhões de ton (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2018). É uma oleaginosa de grande importância, devido à composição química do seu grão, com alto teor de proteínas e ácidos graxos (GOMES, 1981). Representa um componente de valor na alimentação humana e animal, possibilitando seu uso intensivo pela agroindústria (produção de farelo de soja, utilizado como ração animal e o óleo vegetal), pela indústria química, pela indústria de alimentos e como fonte alternativa de biocombustível (FREITAS, 2011).

A cultura é afetada por diversos fatores bióticos e, entre eles, as doenças se destacam, podendo causar prejuízos consideráveis, o que varia anualmente e regionalmente de acordo com o clima, a suscetibilidade das plantas e a presença e disseminação dos patógenos (EMBRAPA SOJA, 2013). Dentre as principais doenças destaca-se a antracnose, a qual tem como principais fontes de inóculo sementes infectadas e restos culturais. Desta forma, é uma das primeiras doenças a se estabelecer na cultura. Os sintomas podem ser observados na fase inicial, pelo tombamento das plântulas, lesões nos cotilédones e posteriormente em folhas e hastes, sendo na fase reprodutiva os danos mais significantes, causando redução no número de vagens, queda e abertura das vagens imaturas, germinação dos grãos em formação, além de induzir a planta à retenção foliar e haste verde (AMORIM et al., 2016).

Diferentes espécies de *Colletotrichum* têm sido relacionadas à antracnose da soja, e não apenas a espécie *C. truncatum*, geralmente indicada como agente causal da doença (BARBIERI et al., 2017; LEHMAN; WOLF, 1926; MAHMODI et al., 2013; RICCONI; CONCA; HARTMAN, 1998; YANG; HAUDENSHIELD; HARTMAN, 2012, 2014).

Considera-se, assim, um complexo de espécies responsáveis pela redução da produtividade no Brasil e no mundo, tendo sido relatadas perdas de 90 kg/ha de grãos para cada incremento de 1% da doença no norte do Brasil (DIAS; PINHEIRO; CAFÉ-FILHO, 2016).

Para o controle da antracnose na soja são recomendados rotação de culturas, manejo adequado do solo e adubação potássica balanceada, espaçamentos maiores e densidades de plantas menores, tratamento de sementes com fungicidas e eficiente controle de plantas daninhas (AMORIM et al., 2016). É pouco citado o uso de cultivares resistentes, apesar de já terem sido identificadas algumas fontes de resistência à doença (COSTA et al., 2009).

O controle químico é amplamente utilizado nos campos de produção da soja, tanto para o tratamento de sementes, quanto em aplicações foliares voltadas, principalmente, ao controle da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizie*) e das doenças de final de ciclo (DFC). Nas regiões de cerrado, a incidência da doença é recorrente e, ainda assim, existem poucos trabalhos voltados para a eficiência de fungicidas no controle do patógeno (DIAS; PINHEIRO; CAFÉ-FILHO, 2016; PESQUEIRA; BACCHI; GAVASSONI, 2016). São necessários mais estudos relacionados à eficiência do controle químico da doença, pois com o uso intenso de determinados ingredientes ativos sem monitoramento e manejo adequado, o risco de resistência às moléculas é alto (FRAC, 2018).

A alta variabilidade na morfologia e biologia de *Colletotrichum* sp. (SUTTON, 1992) dificulta a descrição e diferenciação das espécies, por isso, técnicas moleculares vêm sendo utilizadas para essa finalidade. A espécie *C. cliviae*, atualmente reclassificada como *C. plurivorum* (DAMM et al., 2019), caracterizada molecularmente e identificada como patogênica à soja em isolados do estado do Mato Grosso (BARBIERI et al., 2017), é um exemplo da diversidade genética que essa doença apresenta. Portanto, identificar e conhecer as características de patogenicidade das espécies *Colletotrichum* que afetam uma das principais *commodities* do Brasil é fundamental para entender a epidemiologia da doença e obter sucesso no desenvolvimento de estratégias de controle mais eficientes.

Assim, os objetivos desse estudo foram: caracterizar de forma morfológica e cultural a espécie *C. plurivorum* comparando-a com *C. truncatum*, comparar a agressividade e a capacidade de transmissão semente-planta e planta-semente entre *C. plurivorum* e *C. truncatum* na cultura da soja; testar a reação de diferentes cultivares de soja a *C. plurivorum*; e verificar a sensibilidade *in vitro* de *C. plurivorum* a fungicidas registrados no Brasil para controle da antracnose da soja.

2. CONCLUSÕES

Isolados de *Colletotrichum* com conídios cilíndricos, anteriormente nomeados *C. cliviae*, foram reclassificados como *C. plurivorum*. Nove novos isolados de soja sintomática dos estados do Mato Grosso e Goiás foram classificados como *C. plurivorum*. Um isolado coletado no estado do Mato Grosso foi classificado como *C. musicola*, sendo este o primeiro relato dessa espécie isolada de planta sintomática de soja.

No teste de caracterização cultural, os isolados de *C. plurivorum* tiveram taxa de crescimento micelial maior do que os isolados de *C. truncatum* nos três meios de cultura avaliados (BDA sintético, BDA semissintético e SNA), a 25°C, enquanto que a esporulação dos isolados da segunda espécie foi superior aos da primeira. Na medição das dimensões de conídios, os isolados de *C. plurivorum* tiveram como média 16,84 x 6,56 µm (comprimento x largura) e os de *C. truncatum* 23,02 x 3,95 µm.

No teste de comparação de agressividade entre *C. plurivorum* e *C. truncatum* na cultivar de soja AMS Tibagi, o isolado da segunda espécie se mostrou mais agressivo do que os isolados de *C. plurivorum* avaliados. O mesmo comportamento foi observado no teste de transmissão semente-planta, em que para os isolados LFN0008, CMES1059 e CMES1076, a taxa de transmissão do patógeno da semente para a planta variou entre 75% e 79% e para o isolado LFN0019 foi de, aproximadamente, 37%.

Não foi observada transmissão dos isolados de *C. truncatum* e *C. plurivorum* para os grãos quando inoculados em plantas de soja da cultivar AMS Tibagi nos estágios R2 e R5, além de não afetarem a produção de vagens e grãos quando comparados ao tratamento não inoculado.

No teste de reação de cultivares a *C. plurivorum*, dentre as nove cultivares inoculadas com dois isolados do fungo, a AMS Tibagi foi a que apresentou maior resistência, pois não teve sua qualidade fisiológica afetada na presença do inóculo, enquanto que as demais cultivares foram afetadas nos parâmetros avaliados. Esse resultado deve ser levado em consideração em futuras pesquisas com a espécie *C. plurivorum*, inclusive em repetições dos testes de transmissão realizados neste estudo.

Isolados de *Colletotrichum plurivorum* e *C. musicola*, provenientes de plantas sintomáticas de soja, apresentaram insensibilidade, baixa ou média sensibilidade aos fungicidas do grupo das estrobilurinas (QoIs) trifloxistrobina e piraclostrobina quanto à inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos. Para esses mesmos fungicidas, os isolados de *C. truncatum* e *C. sojæ* foram classificados como altamente sensíveis (CE₅₀ menor que 1 µg mL⁻¹).

Os isolados de *C. plurivorum* e *C. musicola* apresentaram a mutação E198A no gene da beta-tubulina, que confere resistência ao tiofanato-metílico. Dos isolados caracterizados molecularmente quanto à resistência, oito isolados de *C. plurivorum* foram também testados *in vitro* e apresentaram insensibilidade ao fungicida na dose de 100 µg mL⁻¹. Os isolados de *C. truncatum* foram considerados altamente sensíveis ao produto no teste de inibição do crescimento micelial e não apresentaram a mutação no gene analisado, assim como o isolado de *C. sojae*.

Os oito isolados de *C. plurivorum* e os dois isolados de *C. truncatum*, avaliados no teste de inibição do crescimento micelial, foram considerados altamente sensíveis aos fungicidas difenoconazol e fludioxonil.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários.** Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>>. Acesso em: 22 maio. 2018.
- AMORIM, L. et al. **Manual de fitopatologia.** São Paulo: Agronômica Ceres, 2016.
- ANGELINI, R. M. D. M. et al. Genetic analysis and molecular characterisation of laboratory and field mutants of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) resistant to QoI fungicides. **Pest Management Science**, v. 68, n. 9, p. 1231–1240, 1 set. 2012.
- BAGGIO, J. S.; PERES, N. A.; AMORIM, L. Sensitivity of *Botrytis cinerea* isolates from conventional and organic strawberry fields in Brazil to azoxystrobin, iprodione, pyrimethanil, and thiophanate-methyl. **Plant Disease**, v. 102, n. 9, p. 1803–1810, 29 set. 2018.
- BARBIERI, M. C. G. et al. First Report of *Colletotrichum cliviae* Causing Anthracnose on Soybean in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 9, p. 1677–1677, 20 set. 2017.
- BARBIERI, M. C. G.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; MASSOLA, N. S. **Caracterização molecular de novas espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose da soja no Brasil.** São Pedro - SP: Anais do 48º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2015
- BARTLETT, D. W. et al. The strobilurin fungicides. **Pest Management Science**, v. 58, n. 7, p. 649–662, jul. 2002.
- BEN-DANIEL, B.; BAR-ZVI, D.; TSROR (LAHKIM), L. Transmission of *Colletotrichum coccodes* via tomato seeds. **Phytoparasitica**, v. 38, n. 2, p. 167–174, 27 abr. 2010.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes.** Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009.
- BRENNAN, G. P. et al. Understanding tricyclazole resistance. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 82, n. 2, p. 104–109, 1 abr. 2007.
- BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance: the assessment of risk.** [s.l.] FRAC, 2007.
- CAI, L. et al. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 183–204, 2009.
- CARDWELL, K. F. Pathotypes of *Colletotrichum graminicola* and seed transmission of sorghum anthracnose. **Plant Disease**, v. 73, n. 3, p. 255–257, 1989.

- CHEN, F.; LIU, X.; SCHNABEL, G. Field strains of *Monilinia fructicola* resistant to both MBC and DMI fungicides isolated from stone fruit orchards in the eastern United States. **Plant Disease**, v. 97, n. 8, p. 1063–1068, 8 ago. 2013.
- CHEN, L. S. et al. PCR-based detection and differentiation of anthracnose pathogens, *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. truncatum*, from vegetable soybean in Taiwan. **Journal of Phytopathology**, v. 154, n. 11–12, p. 654–662, dez. 2006.
- CHOWDAPPA, P. et al. Multilocus gene phylogeny reveals occurrence of *Colletotrichum cymbidiicola* and *C. cliviae* on orchids in north east India. **Journal of Plant Pathology**, v. 96, n. 2, p. 327–334, 5 jul. 2014.
- CHUNG, W.-H. et al. Fungicide sensitivity and phylogenetic relationship of anthracnose fungi isolated from various fruit crops in Japan. **Plant Disease**, v. 90, n. 4, p. 506–512, 16 abr. 2006.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília: Conab, 2018. v. 5
- COSTA, I. F. D. DA et al. Resistência de seis cultivares de soja ao *Colletotrichum truncatum* (Schwein) em dois estádios fenológicos. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1684–1688, dez. 2006.
- COSTA, I. F. D. DA et al. Reação de germoplasma comercial de soja a *Colletotrichum truncatum*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 1, p. 47–50, fev. 2009.
- COSTA, J. A. **Cultura da soja**. Porto Alegre: Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO), 1996.
- COSTA, M. L. N. et al. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1023–1030, out. 2003.
- CROUS, P. W. et al. *Calonectria* species and their *Cylindrocladium* anamorphs: species with sphaeropedunculate vesicles. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 415–430, 2004.
- CRUZ JIMENEZ, D. R. et al. Isolate–cultivar interactions, in vitro growth, and fungicide sensitivity of *Fusarium oxysporum* isolates causing seedling disease on soybean. **Plant Disease**, v. 102, n. 10, p. 1928–1937, 2 out. 2018.
- DAMM, U. et al. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. 2009.
- DAMM, U. et al. The *Colletotrichum destructivum* species complex – hemibiotrophic pathogens of forage and field crops. **Studies in Mycology**, v. 79, p. 49–84, 1 set. 2014.
- DAMM, U. et al. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. **Studies in Mycology**, v. 92, p. 1–46, 1 mar. 2019.

- DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.
- DIAO, Y.-Z. et al. *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of chili in China. **Persoonia**, v. 38, p. 20–37, jun. 2017.
- DIAS, M. D. et al. Biology, pathogenicity, and haplotype analyses of *Colletotrichum cliviae*: a novel soybean anthracnose agent in warm tropical areas. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 5, p. 439–451, 4 out. 2018.
- DIAS, M. D.; PINHEIRO, V. F.; CAFÉ-FILHO, A. C. Impact of anthracnose on the yield of soybean subjected to chemical control in the north region of Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 1, p. 18–23, mar. 2016.
- DOUANLA-MELI, C.; UNGER, J.-G. G.; LANGER, E. Multi-approach analysis of the diversity in *Colletotrichum cliviae* sensu lato. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 111, n. 3, p. 423–435, 1 mar. 2018.
- EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v. 61, n. 1, p. 42–44, 1971.
- EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de produção de soja - Região Central do Brasil 2014**. Londrina: Embrapa Soja, 2013.
- FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D. et al. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. **International Microbiology**, v. 11, p. 1–9, 2008.
- FORCELINI, B. B. . et al. Resistance in strawberry isolates of *Colletotrichum acutatum* from Florida to quinone-outside inhibitors fungicides. **Plant Disease**, v. 100, n. 10, p. 2050–2056, 2016.
- FÖRSTER, H.; KANETIS, L.; ADASKAVEG, J. E. Spiral gradient dilution, a rapid method for determining growth responses and 50% effective concentration values in fungus–fungicide interactions. **Phytopathology**, v. 94, n. 2, p. 163–170, 5 fev. 2004.
- FRAC. FRAC Code List ©*2018: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). p. 14, 2018.
- FREITAS, M. DE C. M. A cultura da soja no Brasil: o crescimento da produção brasileira e o surgimento de uma nova fronteira agrícola. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1–12, 2011.
- FURUKAWA, K. et al. Fungal fludioxonil sensitivity is diminished by a constitutively active form of the group III histidine kinase. **FEBS Letters**, v. 586, n. 16, p. 2417–2422, 30 jul. 2012.

- GALLI, J. A. et al. **Resistência de variedades de soja à morte de plântulas causada por *Colletotrichum truncatum*** Arq. Inst. Biol. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v74_2/galli.pdf>. Acesso em: 5 out. 2018.
- GAMARNIK, A. Prevention of infection of soybean seeds by *Colletotrichum truncatum* by polyamine biosynthesis inhibitors. **Phytopathology**, v. 84, n. 12, p. 1445–1448, 1994.
- GAO, Y.-Y. et al. Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* to six fungicides and reduction in incidence and severity of chili anthracnose using pyraclostrobin. **Australasian Plant Pathology**, v. 46, n. 6, p. 521–528, 17 nov. 2017.
- GAO, Y. et al. Assessment of the baseline sensitivity and resistance risk of *Colletotrichum acutatum* to fludioxonil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 150, n. 3, p. 639–651, 27 mar. 2018.
- GISI, U. et al. Mechanisms influencing the evolution of resistance to Qo inhibitor fungicides. **Pest Management Science**, v. 58, n. 9, p. 859–867, set. 2002.
- GLASS, N. L.; DONALDSON, G. C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 1323–30, abr. 1995.
- GODOY, C. V. et al. Doenças da soja. In: AMORIM, L. et al. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**. 5 ed. ed. Ouro Fino - MG: Agronômica Ceres Ltda, 2016. p. 657–675.
- GOMES, R. P. **A soja**. 5. ed. São Paulo: Nobel, 1981.
- GRASSO, V. et al. Cytochrome *b* gene structure and consequences for resistance to Qo inhibitor fungicides in plant pathogens. **Pest Management Science**, v. 62, n. 6, p. 465–472, 1 jun. 2006.
- GROVER, R. K.; BANSAL, R. D. **Seed borne nature of *Colletotrichum capsici* in chilli seeds and its control by seed dressing fungicides**. [s.l.] Indian Phytopathological Society, 1970. v. 23
- GUERBER, J. C. et al. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. **Mycologia**, v. 95, n. 5, p. 872–895, 2003.
- HAN, Y. et al. Carbendazim sensitivity in populations of *Colletotrichum gloeosporioides* complex infecting strawberry and yams in Hubei Province of China. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 6, p. 1391–1400, 1 jun. 2018.
- HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. **Compendium of soybean diseases**. Fourth edition. ed. St. Paul Minnesota.: APS Press, 1999.

- HAWKINS, N. J.; FRAAIJE, B. A. Fitness penalties in the evolution of fungicide resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 56, n. 1, p. 339–360, 25 ago. 2018.
- HU, M.-J. et al. Resistance in *Colletotrichum siamense* from peach and blueberry to thiophanate-methyl and azoxystrobin. **Plant Disease**, v. 99, n. 6, p. 806–814, 15 jun. 2015.
- HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. **MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny** **Bioinformatics**, v.17, 2001. Disponível em: <<http://mrbayes.sourceforge.net>>. Acesso em: 3 set. 2018
- HYMOWITZ, T. Soybeans: The Success Story. In: JANICK, J.; SIMON, J. E. (Eds.). **Advances in new crops**. Portland, OR: Timber Press, 1990. p. 159–163.
- ITO, M. F. Principais doenças da cultura da soja e manejo integrado. **Nucleus**, v. 10, n. 3, p. 83–101, 7 jun. 2013.
- KLINGELFUSS, L. H.; YORINORI, J. T. Infecção latente de *Colletotrichum truncatum* e *Cercospora kikuchii* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 158–164, jun. 2001.
- KUCHAREK, T. **Some common soybean leaf and stem diseases** **Plant Pathology Fact Sheet** Gainesville Plant Pathology Department, IFAS, University of Florida, , 2001. Disponível em: <<https://plantpath.ifas.ufl.edu/media/plantpathifasufledu/factsheets/pp0016.pdf>>. Acesso em: 24 maio. 2018
- KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870–1874, 1 jul. 2016.
- LEHMAN, S. G.; WOLF, F. A. Soy-bean anthracnose. **Journal of Agricultural Research**, v. 33, n. 4, p. 381–390, 1926.
- LIU, F. et al. Unravelling *Colletotrichum* species associated with *Camellia*: employing ApMat and GS loci to resolve species in the *C. gloeosporioides* complex. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 35, p. 63–86, 23 dez. 2015.
- LUCAS, J. A.; HAWKINS, N. J.; FRAAIJE, B. A. The evolution of fungicide resistance. **Advances in Applied Microbiology**, v. 90, p. 29–92, 1 jan. 2015.
- MA, Z.; MICHAILIDES, T. J. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. **Crop Protection**, v. 24, n. 10, p. 853–863, 1 out. 2005.
- MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. **Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.51**. Disponível em: <<http://www.mesquiteproject.org>>. Acesso em: 3 set. 2018.

- MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176–177, 20 nov. 1962.
- MAHMUDI, F. et al. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on soybean (*Glycine max*) in Malaysia. **Plant Disease**, v. 97, n. 6, p. 841–841, jun. 2013.
- MAIR, W. J. et al. Demethylase inhibitor fungicide resistance in *Pyrenophora teres* f. sp. *teres* associated with target site modification and inducible overexpression of *Cyp51*. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1279, 19 ago. 2016.
- MANANDHAR, J. B.; HARTMAN, G. L. Anthracnose. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Eds.). . **Compendium of Soybean Diseases**. Fourth edi ed. St. Paul Minnesota: APS Press, 1999. p. 13–14.
- MANANDHAR, J. B.; HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B. *Colletotrichum destructivum*, the anamorph of *Glomerella glycines*. **Phytopathology**, v. 76, n. 3, p. 282, 1986.
- MASSON, G. DE L. et al. Transmissão planta-semente de *Colletotrichum truncatum* em soja. **Nucleus**, v. 12, n. 1, p. 35–42, 2015.
- MAYONJO, D. M.; KAPOORIA, R. G. Occurrence and variability of *Colletotrichum truncatum* on soybean in Zambia. **EPPO Bulletin**, v. 33, n. 2, p. 339–341, ago. 2003.
- MCDONALD, B. A.; LINDE, C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, n. 1, p. 349–379, 28 set. 2002.
- MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A Soja no Brasil**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), 1981.
- MORDUE, J. E. M. *Colletotrichum graminicola*. **CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria**, v. 132, 1967.
- MUNKVOLD, G. P. et al. Benefits of chemical seed treatments on crop yield and quality. In: **Global Perspectives on the Health of Seeds and Plant Propagation Material**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014. p. 89–103.
- NEDDAF, H. M. et al. Equal distribution of mating type alleles and the presence of strobilurin resistance in algerian *Zymoseptoria tritici* field populations. **Plant Disease**, v. 101, n. 4, p. 544–549, abr. 2017.
- NOETZOLD, R. et al. Variabilidade espacial de *Colletotrichum truncatum* em campo de soja sob três níveis de sanidade de sementes. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 1, p. 16–23, mar. 2014.

- NYLANDER, J. A. A. **MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University** Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, , 2004.
- OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plantulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.).** [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 1991.
- PESQUEIRA, A. DA S.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Associação de fungicidas no controle da antracnose da soja no Mato Grosso do Sul. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 203–212, 2016.
- RALLOS, L. E. E.; BAUDOIN, A. B. Co-occurrence of two allelic variants of CYP51 in *Erysiphe necator* and their correlation with over-expression for DMI resistance. **Plos One**, v. 11, n. 2, p. e0148025, 3 fev. 2016.
- RAMBAUT, A. **FigTree**. Disponível em: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>. Acesso em: 3 set. 2018.
- REY, M. S. et al. Transmissão semente-plântula de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Arq. Inst. Biol**, v. 76, n. 3, p. 465–470, 2009.
- RICCIONI, L.; CONCA, G.; HARTMAN, G. L. First Report of *Colletotrichum coccodes* on Soybean in the United States. **Plant Disease**, v. 82, n. 8, p. 959–959, ago. 1998.
- ROGÉRIO, F. et al. Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 2, p. 402–415, 1 fev. 2017.
- SAINI, T. J.; GUPTA, S. G.; ANANDALAKSHMI, R. Detection of chilli anthracnose caused by *Colletotrichum cliviae* in India. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 12, n. 33, p. 1–4, 25 dez. 2017.
- SAJEESH, P. K.; RAO, L.; JAHAGIRDAR, S. Molecular detection, transmission and histopathological studies of seed-borne fungal infection of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **The Bioscan**, v. 9, n. 1, p. 247–251, 2014.
- SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology**. 4. ed. Belmont, California: Wadsworth Publishing Company, 1992.
- SCHMITZ, H. K. et al. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outside-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p. 378–388, mar. 2014.

- SHARMA, G.; PINNAKA, A. K.; SHENOY, B. D. ITS-based diversity of *Colletotrichum* from India. **Current Research in Environmental & Applied Mycology**, v. 3, n. 2, p. 194–220, 2013.
- SINCLAIR, J. B. **Compendium of soybean diseases**. 2. ed. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1982.
- SINGH, D. P. Relative susceptibility of soybean cultivars to pod blight caused by *Colletotrichum truncatum* (Schw.). **Agricultural Science Digest (Karnal)**, v. 13, n. 2, p. 90–92, 1993.
- SOUSA, E. S. et al. *Colletotrichum* species causing anthracnose on lima bean in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 1, p. 78–84, 20 fev. 2018.
- SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). **Colletotrichum: Biology, Pathology and Control**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 1–26.
- TEIXEIRA, H.; MACHADO, J. DA C. Transmissibilidade e efeito de *Acremonium strictum* em sementes de milho. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 5, p. 1045–1052, out. 2003.
- THANGAVEL, T. et al. Detection of two *Peronospora* spp., responsible for downy mildew, in opium poppy seed. **Plant Disease**, p. PDIS-03-18-0503, 13 set. 2018.
- THOMAS, G. J.; SWEETINGHAM, M. W. Fungicide seed treatments reduce seed transmission and severity of lupin anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Australasian Plant Pathology**, v. 32, n. 1, p. 39, 2003.
- TIFFANY, L. H. The anthracnose complex on soybean. **Review of applied mycology**, v. 30, p. 598–599, 1951.
- TORRES-CALZADA, C. et al. Sensitivity of *Colletotrichum truncatum* to four fungicides and Characterization of Thiabendazole-Resistant Isolates. **Plant disease**, v. 99, n. 11, 2015.
- UNTERGASSER, A. et al. Primer3--new capabilities and interfaces. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 15, p. e115, ago. 2012.
- VECHIATO, M. H.; KOHARA, E. Y.; MENTEN, J. O. M. Transmissão de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, v. 23, p. 265–269, 1997.
- VIEIRA, W. A. S. et al. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, v. 67, n. 1, p. 181–202, 28 jul. 2014.
- VIELBA-FERNÁNDEZ, A. et al. Heteroplasmy for the cytochrome *b* gene in *Podosphaera xanthii* and its role in resistance to QoI fungicides in Spain. **Plant Disease**, v. 102, n. 8, p. 1599–1605, 3 ago. 2018.

- WEIDEMANN, G. J.; TEBEEST, D. O.; CARTWRIGHT, R. D. Host specificit of *Colletotrichum gloesporioides* f. sp. *aechynonebe* and *C. truncatum* in the Leguminosae. **Phytopathology**, v. 78, n. 7, p. 986–990, 1988.
- WONG, F. P. et al. Detection and characterization of benzimidazole resistance in California populations of *Colletotrichum cereale*. **Plant Disease**, v. 92, n. 2, p. 239–246, 9 fev. 2008.
- WYAND, R. A.; BROWN, J. K. M. Sequence variation in the *CYP51* gene of *Blumeria graminis* associated with resistance to sterol demethylase inhibiting fungicides. **Fungal Genetics and Biology**, v. 42, n. 8, p. 726–735, 1 ago. 2005.
- XIAO, K. et al. Effect of famoxadone on photoinduced electron transfer between the iron-sulfur center and cytochrome *c*₁ in the cytochrome *bc*₁ complex. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 13, p. 11419–11426, 28 mar. 2003.
- YANG, H.-C.; HARTMAN, G. L. Methods and Evaluation of Soybean Genotypes for Resistance to *Colletotrichum truncatum*. **Plant Disease**, v. 99, n. 1, p. 143–148, 1 jan. 2015.
- YANG, H.-C.; HAUDENSHIELD, J. S.; HARTMAN, G. L. First report of *Colletotrichum chlorophyti* causing soybean anthracnose. **Plant Disease**, v. 96, n. 11, p. 1699–1699, 22 nov. 2012.
- YANG, H.-C.; HAUDENSHIELD, J. S.; HARTMAN, G. L. *Colletotrichum incanum* sp. nov., a curved-conidial species causing soybean anthracnose in USA. **Mycologia**, v. 106, n. 1, p. 32–42, 20 jan. 2014.
- YANG, Y. et al. *Colletotrichum* Species on Orchidaceae in Southwest China. **Cryptogamie, Mycologie**, v. 32, n. 3, p. 229–253, set. 2011.
- YANG, Y. L. et al. *Colletotrichum* anthracnose of *Amaryllidaceae*. **Fungal Diversity**, 2009.
- YOUNG, J. R. et al. Two mutations in β -tubulin 2 gene associated with thiophanate-methyl resistance in *Colletotrichum cereale* isolates from creeping bentgrass in Mississippi and Alabama. **Plant Disease**, v. 94, n. 2, p. 207–212, 8 fev. 2010.
- ZHOU, Z.; LI, Y. L. First report of *Colletotrichum cliviae* causing anthracnose on *Zamioculcas zamiifolia* in henan province, China. **Plant Disease**, v. 101, n. 5, p. 838–838, 14 maio 2017.