



## COLLETOTRICHUM EN VERGER DE NOYERS

# AVANCÉES DES TRAVAUX SUR CE PATHOGENE COMPLEXE

### RÉSUMÉ

Depuis 2011, les vergers de noyers du Sud-Est de la France, principalement, sont touchés par un nouveau pathogène : le *Colletotrichum*. Ce champignon, qui provoque une nécrose du brou, peut entraîner une chute précoce du fruit. Les pertes de rendement peuvent atteindre 70 % certaines années. Des travaux ont donc été mis en place avec différents partenaires afin de mieux comprendre son épidémiologie. Une analyse de la flore fongique des bourgeons dormants a permis d'identifier les principales espèces de *Colletotrichum* impliquées. L'amélioration des connaissances sur le pathogène fait partie des travaux en cours ainsi que la recherche de méthodes de lutte efficaces. De nombreux fongicides sont testés *in vitro* et sur fruits détachés. Des essais terrain sont aussi réalisés pour évaluer leur efficacité et tester des méthodes prophylactiques.

### COLLETOTRICHUM IN WALNUT ORCHARDS : PROGRESS MADE ON THIS COMPLEX PATHOGEN

Since 2011, walnut orchards in the south-east of France have been affected by a new pathogen : *Colletotrichum*. This fungus, that can cause darkening of the husk, can also lead to early fruit drop. Some years harvest losses can reach up to 70 %. Therefore studies have been set up with different partners in order to better understand its epidemiology. A fungal flora analysis of dormant buds led to the identification of the main *Colletotrichum* species responsible for the disease. Improving knowledge of the pathogen is part of the ongoing work being carried out, as well as discovering efficient means of control. Several fungicides have been tested *in vitro* and on detached fruits. Field trials have also been conducted to evaluate their efficacy and test prophylactic methods.

*Le verger de noyers français est en expansion [+ 25 % entre 2000 et 2010 (Agreste, 2012)], mais certains problèmes émergents tels que le Colletotrichum peuvent freiner son développement, voir le remettre en cause.*



> SPORULATIONS DE COLLETOTRICHUM SUR NOIX



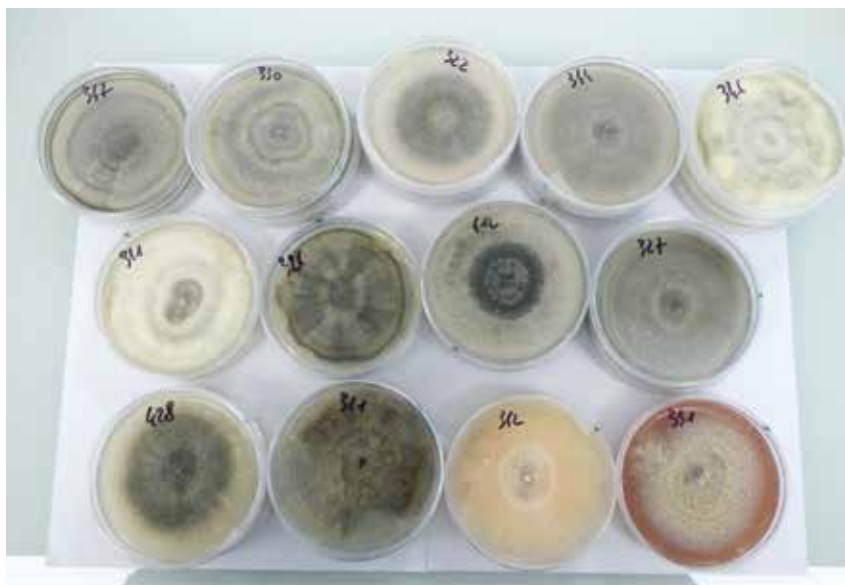
## LES COLLETOTRICHUM, AGENTS PATHOGÈNES RESPONSABLES D'ANTHRACNOSE

Les *Colletotrichum* spp. sont des champignons Ascomycètes de la famille des Glomerellaceae [ordre des Glomerellales (Réblová *et al.*, 2011)]. *Colletotrichum* est un genre mondialement distribué dont la première description a été faite par Corda en 1831, sa reproduction sexuée (non observée pour la plupart des espèces) est connue sous le nom de *Glomerella* spp. (Von Schrenk & Spaulding, 1903).

La plupart des espèces sont des agents pathogènes des plantes ; elles peuvent être transmises par les semences, et sont capables de survivre en tant que saprotrophe dans les sols sur des débris végétaux, provoquant une maladie de type anthracnose sur de très nombreuses plantes ligneuses et herbacées. Partout dans le monde, l'anthracnose causée par *Colletotrichum* spp. affecte particulièrement la production de fruits avec le développement de lésions nécrotiques, rapidement recouvertes de masses conidiennes colorées qui peuvent également apparaître sur les feuilles, les fleurs et les tiges des plantes infectées (Peres *et al.*, 2005 ; Cannon *et al.*, 2012 ; Baroncelli *et al.*, 2016).

Ce genre représente une menace importante pour les productions agricoles et a été désigné comme le huitième plus important groupe de champignons phytopathogènes dans le monde (Dean *et al.*, 2012).

De nombreuses espèces sont capables de manifester différents styles de vie ; les premières phases de colonisation sont souvent biotrophes, dans des tissus végétaux, et asymptomatiques. Cette phase généralement courte est suivie d'une phase nécrotrophe qui entraîne la mort des cellules végétales et l'apparition de symptômes sur la plante. D'autres espèces peuvent aussi être des phytopathogènes hémibiotrophes, établissant une interaction biotrophique initiale avec la plante hôte et évoluant ensuite vers un mode de vie nécrotrophe destructeur (Vargas *et al.*, 2012). Le comportement biotrophique de nombreuses espèces peut expliquer qu'elles aient été souvent décrites comme des endophytes, dans des tissus végétaux, sans symptômes (Rojas *et al.*, 2010 ; Jayawardena *et al.*, 2016).



> DIVERSITÉ MORPHOTYPIQUE AU SEIN DU COMPLEXE *C. ACUTATUM*

© SENURA

L'identification des espèces de *Colletotrichum* est difficile ce qui a contribué à une multiplication du nombre d'espèces décrites. Il a longtemps été supposé que les espèces de *Colletotrichum* étaient fortement spécifiques de leur hôte, ainsi chaque fois qu'une infection causée par ce pathogène est apparue sur un nouvel hôte, une nouvelle espèce a été proposée, conduisant, au cours du siècle dernier, à la description d'environ 750 espèces différentes. À l'inverse, von Arx (von Arx, 1957) en utilisant une approche d'identification basée uniquement sur les caractéristiques morphologiques a réduit le nombre d'espèces acceptées de 750 à 11. Mais ces 11 espèces correspondaient plus à des groupes d'espèces qu'à des espèces *stricto sensu*.

Par la suite des études combinant les aspects morphologiques, les caractéristiques culturales, et les données patho-

logiques ont décrit de nouvelles espèces (Sutton, 1980)

À partir de 1990 l'utilisation de séquences d'ADN pour classifier les espèces de champignons (White *et al.*, 1990) s'est généralisée et a permis une clarification de la taxonomie du genre *Colletotrichum* (Mills *et al.*, 1992 ; Sreenivasaprasad *et al.*, 1994).

Les premières utilisations portaient uniquement sur les variations de la région ITS1 (le gène ITS étant le plus utilisé pour l'identification des champignons), mais avec la réduction des coûts du séquençage, les analyses phylogénétiques multilocus sont devenues courantes et ont grandement contribué à la taxonomie des *Colletotrichum* spp. (Cannon *et al.*, 2012).

De nos jours, le nombre d'espèces de *Colletotrichum* acceptées est d'environ 190 réparties en onze clades monophylé-

### LE COMPLEXE COLLETOTRICHUM ACUTATUM

Dans le cas des noyers les deux espèces pathogènes les plus fréquemment rencontrées *C. godetiae* et *C. fioriniae* appartiennent au complexe d'espèce *C. acutatum*. Ce complexe comporte 34 espèces (Jayawardena *et al.*, 2016) qui sont parmi les plus fréquemment associées à des pourritures de fruits partout dans le monde (Damm *et al.*, 2012). La plupart des espèces de ce complexe présentent peu de variations morphologiques et sont difficilement distinguables, toutes produisent des conidies fusiformes avec, au moins, une extrémité pointue (qui a donné le nom « *acutatum* ») ; la forme sexuée n'a été observée que pour quelques espèces (Damm *et al.*, 2012). En revanche, une grande variabilité des caractéristiques physiologiques est observée parmi les *Colletotrichum* du complexe *acutatum* (température optimale, sensibilité aux fongicides...) (Freeman *et al.*, 1998 ; Peres *et al.*, 2004) cela justifie la nécessité d'identifier précisément les espèces responsables d'altérations sur les plantes.



## RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE DES ESPÈCES IDENTIFIÉES

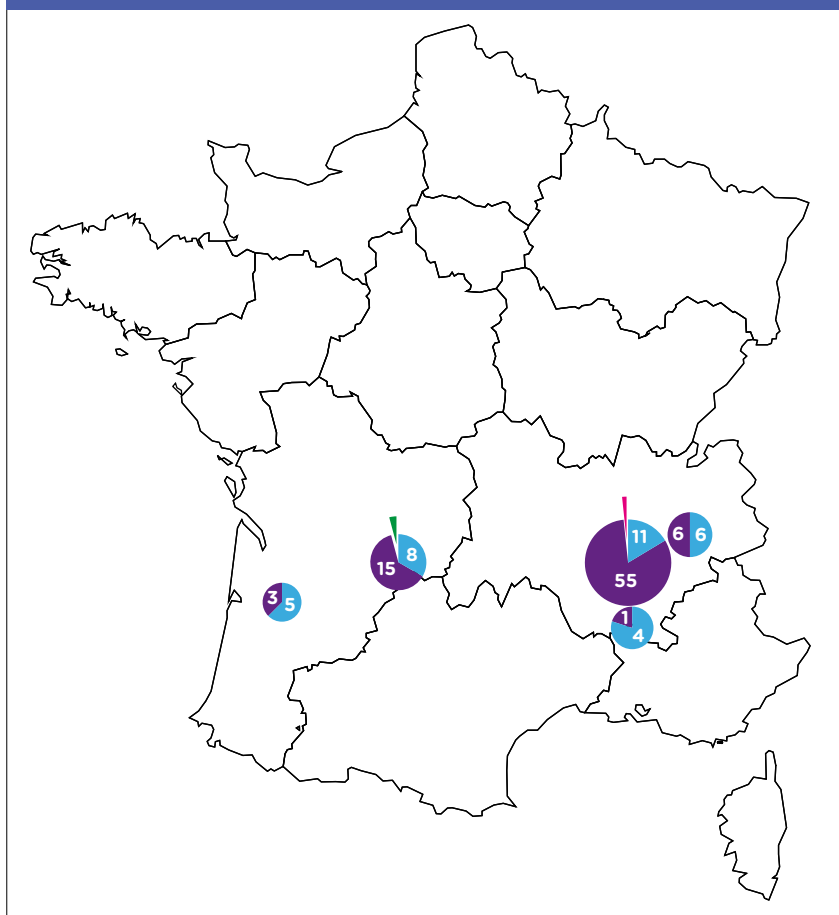
Les souches issues des prélèvements de bourgeons réalisés en 2016 dans les deux bassins de production ont été classées selon leur origine géographique (Figure 1). Il peut être noté que les deux espèces majoritaires : *C. godetiae* et *C. fiorinia*, sont présentes dans les deux zones. La nouvelle campagne de prélèvement en 2018 va permettre d'affiner cette répartition géographique, avec l'addition également de nouvelles zones d'échantillonnage plus éloignées des zones majeures de production. Les analyses sont en cours.

Nombre de souche identifiée par espèce :

- 80 (69 %) *C. godetiae*
- 34 (29 %) *C. fiorinia*
- 1 (< 1 %) *C. nymphaeae*
- 1 (< 1 %) *C. sp*

Travaux du LUBEM

**FIGURE 1 :** Répartition géographique des espèces de *Colletotrichum* identifiées (Da Lio *et al.*, 2018)



tiques (Jayawardena *et al.*, 2016) communément désignés comme complexes d'espèces (Cannon *et al.*, 2012).

### UN AGENT PATHOGENE POLYPHAGE

*Colletotrichum* est l'agent d'antracnose sur de nombreuses cultures telles que les céréales, la fraise, l'olive, l'avocat, la pomme, la mangue, etc. (Bernstein *et al.*, 1995 ; Freeman & Katan, 1997 ; Freeman *et al.*, 1998 ; Talhinas *et al.*, 2011). En France, le *Colletotrichum* a été détecté pour la première fois sur noix en 2007 lors d'une étude sur la bactériose du noyer (Giraud et Verhaeghe, 2015). Il a ensuite été décrit comme agent pathogène du noyer en 2011 suite à de très forts dégâts. Depuis, *Colletotrichum* est devenu l'un des problèmes majeurs

pour la filière nucicole française et c'est pourquoi la SENURA, la station de Creysse, le CTIFL et le LUBEM de l'université de Bretagne Occidentale (UBO) travaillent sur ce pathogène, afin d'améliorer les connaissances sur ce champignon et trouver des solutions de contrôle efficaces et durables. Trois axes de travail sont développés : l'écologie, l'épidémiologie et la lutte raisonnée.

### MICROFLORE DES BOURGEONS DORMANTS

En 2011, lorsque le champignon a été reconnu agent pathogène du noyer, il a été décidé d'étudier la flore des bourgeons dormants et plus spécifiquement la présence de *Colletotrichum* dans les deux principaux bassins de production : le Sud-Est et le Sud-Ouest de la

France. Les bourgeons dormants ont révélé une grande diversité de genres fongiques présents, les plus importants étant *Fusarium*, *Phoma*, *Cryptococcus* et *Colletotrichum*. Les genres *Epicoccum*, *Alternaria*, *Phomopsis*, *Botryosphaeria* et *Botrytis* ont de même été observés. Le genre bactérien *Agrobacterium* a également été détecté avec d'autres familles bactériennes comme celles des *Enterobacteriaceae*, *Sphingomonadaceae* ou *Methylobacteriaceae*. Une grande diversité de micro-organismes est donc présente dans les bourgeons dormants mais à l'heure actuelle, l'incidence de *Colletotrichum* est la plus préjudiciable, notamment en pourcentages de pertes. C'est pourquoi les travaux se sont concentrés sur ce champignon. Grâce à des analyses moléculaires et culturales sur plus de 215 isolats réalisés de 2013 à 2016, il a été possible d'iden-

**FIGURE 2** : Seconde phase d'émission de conidies durant l'été 2015 (Travaux SENURA)



tifier le principal complexe en cause : *Colletotrichum acutatum*, retrouvé sur la totalité des isolats à l'exception d'un seul, appartenant au complexe *Colletotrichum gloeosporioides*. Les premières observations morphologiques en 2012 tendaient pourtant plus vers gloeosporioides au premier abord, confusion classique sans l'aide d'outils moléculaires (Wharton & Diéguez Uribeondo, 2004). Un séquençage multilocus de 116 souches du complexe *acutatum*, réalisé par le LUBEM (Laboratoire universitaire de biodiversité et d'écologie microbienne, UBO), a permis de déterminer les espèces en présence : *C. godetiae* (71 % des souches), *C. fioriniae* (28 %) et *C. nymphaeae* (1 %).

Ces avancées permettent de travailler sur les communautés de micro-organismes spécifiques aux parcelles touchées et aux parcelles saines. Elles améliorent aussi la précision des essais au laboratoire pour le choix des espèces à tester dans les conditions d'expressions du champignon et les sensibilités aux fongicides.

### ÉPIDÉMIOLOGIE

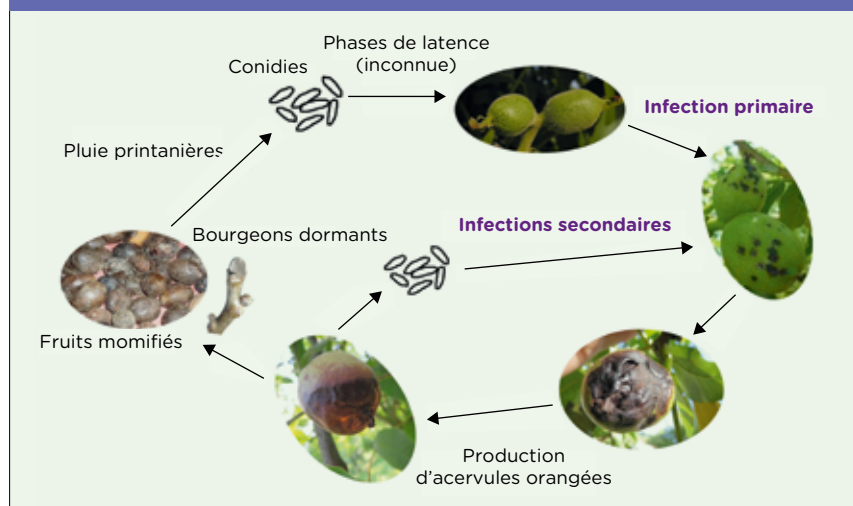
Un suivi des émissions de spores de *Colletotrichum* a été réalisé pendant

quatre ans, afin de déterminer si des périodes étaient plus risquées en termes de potentielles contaminations. Les observations ont montré que les émissions de spores survenaient de mars à septembre et qu'il n'y avait pas de pic précis durant cette période. Des émissions sont observées à chaque pluie et il n'existe pas de lien entre le nombre de spores émises et la quantité de pluie. Ces émissions peuvent tout de même être divisées en deux phases : les spores émises à partir de l'inoculum hivernal

(momies restées sur l'arbre ou au sol, bourgeons, rameaux) et les spores provenant des contaminations de l'année pendant la saison. La deuxième phase présente des quantités de spores émises au moins deux fois supérieures à la première phase (Figure 2).

Pour aller plus loin, suite à ce suivi, il était donc nécessaire de travailler à l'identification des périodes contaminatrices, puisque chaque pluie engendre une émission de conidies. Un essai d'ensachage de fruits a donc été mis

**FIGURE 3** : Cycle probable du *Colletotrichum* sur noyer





© SENURA

> SUIVI PHOTOGRAPHIQUE D'UNE NOIX TOUCHÉE PAR COLLETOTRICHUM DE JUIN À SEPTEMBRE

en place en 2017 dans ce but. Des noix ont été ensachées sur toute la saison à l'exception de deux semaines où les sachets étaient ouverts. Dix modalités ont été nécessaires pour couvrir la saison de début juin à fin septembre, témoins négatifs et positifs compris. Ces essais n'ayant jamais été réalisés auparavant, la méthodologie évolue avec les retours terrain et les résultats obtenus. L'essai s'est poursuivi en 2018 et sera remis en place en 2019 pour affiner les premiers résultats.

Le cycle du champignon (Figure 3) doit encore être affiné, grâce aux essais

conduits et aux apports de la bibliographie. Durant l'hiver, le champignon reste dans les fruits momifiés sur l'arbre ou au sol, dans les bourgeons et sur les rameaux. Au printemps et en été, les spores sont émises et permettent la contamination des jeunes fruits. C'est la première phase de contamination. Le développement des sporulations orangées sur les fruits de l'année et les pluies estivales mènent aux contaminations secondaires et à la création de nouveaux organes de conservation. Des questions persistent encore sur le cycle, notamment le rôle que peuvent

jouer les feuilles ou les combinaisons de température et humidité permettant la contamination, la survie des spores, le développement des symptômes.

## SYMPTOMATOLOGIE

La reconnaissance de *Colletotrichum* au terrain peut être difficile, plus particulièrement en début de saison. Lors de cette période, les nécroses sont de petite taille et peuvent se confondre avec des dégâts dus à la bactériose (causés par *Xanthomonas arboricola*



pv. *juglandis*) ou à l'antracnose à *Gnomonia leptostyla* (maintenant nommé *Ophiognomonia leptostyla*). Cependant, les taches nécrotiques dues à *G. leptostyla* présentent généralement une coloration gris clair typique en leur centre (Giraud & Verhaeghe, 2015). En France, un suivi photographique a été mis en place pendant quatre ans dans les deux bassins de production afin de mieux comprendre l'épidémiologie du champignon et caractériser ses symptômes. Seules les sporulations orangées sur les nécroses permettent d'identifier avec certitude la présence de *Colletotrichum* au terrain. Cependant, selon les conditions météorologiques de l'année, ces sporulations n'apparaissent pas toujours, il est donc nécessaire d'affiner la reconnaissance des symptômes sur la saison. Les premiers symptômes sont généralement observés en juin sur la surface des jeunes fruits : de petites taches sombres avec un aspect sec. Pendant la saison, la nécrose peut finir par recouvrir entièrement le brou de noix, avec des sporulations éventuelles, et mener à une chute précoce du fruit. Ce suivi photographique a permis la réalisation d'une fiche de reconnaissances des symptômes de *Colletotrichum* sur noyer, en concertation avec l'ensemble des partenaires que sont la SENURA, la Station de Creysse, le CTIFL et le LUBEM.

Bien qu'elle ne soit très problématique qu'en France pour le moment, l'antracnose du noyer causée par *Colletotrichum* a aussi été observée en dehors de

## PEI CLIMARBO

**Intitulé :** Changement Climatique et maladies cryptogamiques émergentes en arboriculture en Rhône-Alpes

**Partenaires :** SEFRA, GRAB, INRA, SENURA

**Financement :** Projet partenariat européen pour l'innovation

Le projet ClimArbo (2016-2019) se concentre sur le *Monilia* et sur *Colletotrichum*, deux pathogènes importants qui touchent les fruits à noyaux et les noix, respectivement. L'objectif est d'identifier et de caractériser ces deux pathogènes rencontrés au terrain, de déterminer les périodes de contamination et d'identifier les facteurs climatiques impliqués dans leur développement. Le projet se découpe en quatre actions :

- suivi épidémiologique, caractérisation des périodes de sensibilité et tests d'efficacité de méthodes de lutte en itinéraire technique conventionnel et biologique ;
- identification des facteurs de risque ;
- identification des espèces et des souches présentes sur le terrain ;
- projections du climat dans la zone de production Sud-Est de la France et développement d'indicateurs de risques des maladies.

l'Europe. Récemment, *Colletotrichum fioriniae* a été identifié sur des taches nécrotiques sur feuilles de noyer en Chine (Zhu *et al.*, 2015) et deux articles ont décrit *C. gloeosporioides* comme l'agent d'antracnose sur *Juglans regia* dans la province de Shandong en Chine (Xiaa *et al.*, 2013 ; Zhu *et al.*, 2014).

Vous pouvez retrouver la fiche reconnaissance des symptômes sur : <http://senura.com/index.php/la-senura/documentation-publique>.

## LUTTE RAISONNÉE

De nombreux essais sont conduits pour trouver des moyens de contrôle contre

ce pathogène. Premièrement, des tests d'efficacité au laboratoire et sur le terrain sont mis en place pour un grand nombre de produits. En quatre ans, 23 produits, appartenant à 16 familles chimiques, ont été testés aux laboratoires du CTIFL et de la SENURA en boîtes de Pétri et sur fruits détachés. Certaines molécules sont satisfaisantes au laboratoire mais pour le moment aucun résultat concluant ne ressort au terrain.

Des essais stratégies de lutte ont de même été mis en place mais aucun résultat significatif n'est ressorti à ce jour. La pression du pathogène peut parfois être un facteur limitant. Le positionnement des traitements pendant la saison est également difficile, dû aux lacunes encore présentes sur la connaissance de l'épidémiologie du champignon.

Par ailleurs, une voix essentielle et complémentaire aux essais phytosanitaires est travaillée : les mesures prophylactiques, répondant à la volonté de la filière de réduction des intrants, à la pression sociétale et aux objectifs Ecophyto. Ils s'inspirent de travaux antérieurs réalisés sur *Gnomonia leptostyla* (travaux de la SENURA de 2003). Les méthodes incluent le secouage des fruits momifiés restés sur l'arbre, le broyage des feuilles et résidus de la parcelle et l'apport d'urée. Les premiers résultats de ces essais semblent prometteurs mais plusieurs années d'étude sont nécessaires pour valider ces tendances.





## ENJEU MAJEUR

La gestion du *Colletotrichum* est un enjeu majeur pour la filière nucicole française. Des dégâts entraînant jusqu'à 70 % de pertes peuvent encore être observés et peu de solutions sont possibles à ce jour. Des questions et des blocages persistent avant de pouvoir contrôler efficacement ce pathogène émergent. De gros pro-

grès ont été réalisés sur l'identification du pathogène et les communautés de micro-organismes présentes dans les bourgeons dormants. Un des objectifs de travail est d'identifier les communautés présentes sur des parcelles saines afin d'identifier de potentiels agents de bio-contrôle. Des essais sont toujours menés pour répondre aux principales questions sur l'épidémiologie du champignon et

trouver des méthodes de lutte durables sur le terrain. La filière nucicole se rapproche également de la filière pomme, récemment touchée par ce pathogène en saison, afin de construire conjointement des projets multi-espèces et de mutualiser les efforts. L'ensemble des travaux sur le *Colletotrichum* sont financés par FranceAgriMer, l'Europe via le PEI, la DGAI, les firmes phytosanitaires. ■

## BIBLIOGRAPHIE

von Arx, J.A. (1957). Die arten der gattung *Colletotrichum* Cda. *Phytopathologische Zeitschrift*, 29, p. 413-468.

Baroncelli, R., Amby, D.B., Zapparata, A., et al. (2016). Gene family expansions and contractions are associated with host range in plant pathogens of the genus *Colletotrichum*. *BMC Genomics*, 17, 555.

Bernstein, B., Zehr, E. I., Dean, R. A., & Shabi, E. (1995). Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan, and other hosts. *Plant Disease*, 79(5), p. 478-482.

Børve, J., & Stensvand, A. (2007). *Colletotrichum acutatum* found on apple buds in Norway. *Plant Health Progress* doi, 10.

Cannon, P.F., Damm, U., Johnston, P.R. & Weir, B.S. (2012). *Colletotrichum* - current status and future directions. *Studies in Mycology*, 73, p. 181-213.

Da Lio, D., Cobo-Díaz, J., Masson, C., Chalopin, M., Kebe, D., Giraud, M., Verhaeghe, A., Nodet, P., Sarrocco, S., Le Floch, G. and Baroncelli, B. Combined Metabarcoding and Multi-locus approach for Genetic characterization of *Colletotrichum* species associated with common walnut (*Juglans regia*) anthracnose in France. Submitted.

Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C. & Crous, P.W. (2012). The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73, p. 37-113.

Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond Kosack, K.E., Di Pietro, A., Pietro, D.S, Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis et al. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* 13(4), p. 414-430. <http://doi:10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>.

Freeman, S., Katan, T., & Shabi, E. (1998). Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant disease*, 82(6), p. 596-605.

Freeman, S., Katan, T. (1997). Identification of *Colletotrichum* species responsible for Anthracnose and root necrosis of strawberry in Israel. *Phytopathology*, 87(5), p. 516-521.

Giraud, M, and Verhaeghe, A. (2015). Fiche bio-agresseur: Anthracnose à *Colletotrichum* sp. en verger de noyers. *L'Arboriculture fruitière*, 2.

Hamada, N.A., May De Mio, L.L. (2017). Survival of pathogenic *Colletotrichum* isolates on dormant buds, twigs and fallen leaves of apple trees in commercial orchards. *Fruits* 72(3), p. 168-165.

Jayawardena, R.S., Hyde, K.D., Damm, U., Cai, L., Liu, M., Li, X.H., Zhang, W., Zhao, W.S. & Yan, J.Y. (2016). Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. *Mycosphere*, 7, p. 1192-1260.

Mills, P.R., Sreenivasaprasad, S. & Brown, A.E. (1992). Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates using PCR. *FEMS Microbiology Letters*, 98, p. 137-143.

Peres, N. a. R., Souza, N.L., Peever, T.L. & Timmer, L.W. (2004). Benomyl Sensitivity of Isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from Citrus. *Plant Disease*, 88, p. 125-130.

Peres, N.A., Timmer, L.W., Adaskaveg, J.E. & Correll, J.C. (2005). Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease*, 89, p. 784-796.

Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). The ecology of fungal food spoilage. *Fungi and food spoilage* (pp. 3-9). Springer, Boston, MA.

Réblová, M., Gams, W. & Seifert, K.A. (2011). *Monilochaetes* and allied genera of the Glomerellales, and a reconsideration of families in the Microascales. *Studies in Mycology*, 68, p. 163-191.

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

Sreenivasaprasad, S., Mills, P.R. & Brown, A.E. (1994). Nucleotide sequence of the rDNA spacer 1 enables identification of isolates of *Colletotrichum* as *C. acutatum*. *Mycological Research*, 98, p. 186-188.

Sutton, B.C. (1980). *The Coelomycetes: Fungi Imperfecti with Pycnidia Acervuli and Stomata*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK.

Talhinhas, P., Mota-Capitão, C., Martins, S., Ramos, A. P., Neves-Martins, J., Guerra-Guimarães, L., ... & Oliveira, H. (2011). Epidemiology, histopathology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. *Plant Pathology*, 60(3), p. 483-495.

Vargas, W.A., Martín, J.M.S., Rech, G.E., Rivera, L.P., Benito, E.P., Díaz-Minguez, J.M., Thon, M.R. & Sukno, S.A. (2012). Plant Defense Mechanisms Are Activated during Biotrophic and Necrotrophic Development of *Colletotrichum graminicola* in Maize. *Plant Physiology*, 158, p. 1342-1358.

Von Schrenk, H. & Spaulding, P. (1903). The bitter-rot fungus. *Science*, 17, p. 750-751.

Wharton, P. S., & Diéguez Uribeondo, J. (2004). The biology of *Colletotrichum acutatum*. In *Anales del jardín botánico de Madrid* (Vol. 61, No. 1). Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J.W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In : *PCR protocols: a guide to methods and applications*, (M.A. Innis, D.H. Gelfand, J. Sninsky & T.J. White, eds), p. 315-322. Academic Press (New York).

Xiaa, L. I. U., Keqianga, Y. A. N. G., Yufenga, Z. H. U., Yanfeia, Y. I. N (2013). Laboratory toxicity of eight fungicides against *Colletotrichum gloeosporioides* causing walnut anthracnose. *Chin. J. Pestic. Sci.* 15, p. 412-420

Zhu, Y.F., Yin, Y.F., Qu, W.W., Yang, K.Q. (2014). Occurrence and spread of the pathogens on walnut (*Juglans regia*) in shandong province, China. *Acta Hortic.*, p. 347-351.

Zhu, Y. Z., Liao, W. J., Zou, D. X., Wu, Y. J., Zhou, Y (2015). First report of leaf spot disease on walnut caused by *Colletotrichum fioriniae* in China. *Plant Dis.* 99, 289.