

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Contribuição de espécies de *Diaporthe* na ocorrência de apodrecimento de grãos em vagens verdes e quebraamento de haste da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]

Lucas Rodrigues Versari  
*Magister Scientiae*

VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025

**LUCAS RODRIGUES VERSARI**

**Contribuição de espécies de *Diaporthe* na ocorrência de apodrecimento de grãos em vagens verdes e quebraamento de haste da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Sergio H. Brommonschenkel

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

V561c  
2025  
Versari, Lucas Rodrigues, 1997-  
Contribuição de espécies de *Diaporthe* na ocorrência de  
apodrecimento de grãos em vagens verdes e quebramento de  
haste de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] / Lucas Rodrigues  
Versari. – Viçosa, MG, 2025.

1 dissertação eletrônica (73 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Orientador: Sérgio Hermínio Brommonschenkel.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Fitopatologia, 2025.

Referências bibliográficas: f. 60-68.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.102>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Soja - Doenças e praga. 2. *Diaporthe* - Etiologia. 3. Soja  
- Semente. I. Brommonschenkel, Sérgio Hermínio, 1962-.  
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de  
Fitopatologia. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia.  
III. Título.

CDD 22. ed. 633.3494

**LUCAS RODRIGUES VERSARI**

**Contribuição de espécies de *Diaporthe* na ocorrência de apodrecimento de grãos em vagens verdes e quebraamento de haste da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

---

Lucas Rodrigues Versari  
Autor

---

Sergio Herminio Brommonschenkel  
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 13/03/2025 às 16:30:54 e pelo orientador em 13/03/2025 às 19:38:17. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **EFZM.DOW7.FMXT** e clique no botão 'Validar documento'.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre ter me ajudado e abençoado.

Aos meus pais, Maria Isabel Rodrigues Versari e Sergio Lourenço Versari, por sempre me ajudarem e me apoiarem.

Às minhas irmãs, Camila Rodrigues Versari Ribeiro e Keity Mayara Rodrigues Versari Damasceno, pela amizade e por me ajudarem sempre.

Aos membros e ex-membros do Laboratório de Genética e Genômica da Interação Planta-Patógeno situado no BIOAGRO, na Universidade Federal de Viçosa (MG): Carlos Akira Komoli Utiamada, Mariana Aparecida da Silva, Mariana Salles, Valéria Holtman, Deivid Sacon, Gustavo Lottermann Falkembach, Gustavo Marin, pela amizade e contribuições nesse trabalho também. A Marcia Gabriela Rivadeneira e João Maurício Coelho Lourenço, membros do laboratório e a Doutoranda Dyênici Rodrigues pela amizade e troca de conhecimentos.

Ao meu orientador Professor Dr. Sérgio Hermínio Brommonschenkel, agradeço a participação em todas as atividades relacionadas a esse trabalho, por compartilhar tantos conhecimentos e oferecer toda a infraestrutura necessária para o desenvolvimento da pesquisa.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia (DFP) pela oportunidade de conhecimento concebida, no âmbito profissional e pessoal.

Por fim, agradeço aos membros da banca examinadora pelas contribuições.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

VERSARI, Lucas Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Contribuição de espécies de *Diaporthe* na ocorrência de apodrecimento de grãos em vagens verdes e quebramento de haste da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**. Orientador: Sergio Herminio Brommonschenkel.

O apodrecimento de grãos ainda na fase de enchimento de grãos é um problema recorrente nas últimas cinco safras de soja, especialmente na região médio-norte do estado de Mato Grosso, levando a redução da qualidade e rendimento de grãos, implicando em perdas de até 30% na produtividade. Também na região médio-norte do estado de Mato Grosso nas safras 2020/2021 e 2021/2022, foi relatada a ocorrência de forma generalizada de quebramento da haste da soja, tanto em áreas experimentais quanto em lavouras comerciais. Esse quebramento compromete a colheita mecanizada levando ao decréscimo de produtividade. Tanto o quebramento de haste quanto o apodrecimento de grãos em vagens verdes têm sido associados ao gênero *Diaporthe* como um possível agente causal, uma vez que são frequentemente recuperados dos tecidos sintomáticos. Porém, até o momento, não foram reproduzidos os sintomas de quebramento observado no campo por meio de inoculações com isolados fúngicos do gênero *Diaporthe* em condições controladas. Desta forma, este trabalho teve por objetivo determinar a contribuição de espécies de *Diaporthe* na ocorrência do apodrecimento de grãos em vagens verdes e no quebramento de hastes de plantas de soja. Para isso, inicialmente foram obtidos isolados de *Diaporthe* spp. a partir de plantas de soja com sintomas de apodrecimento de grãos e vagens e de quebramento de haste, que foram posteriormente caracterizados morfológica e molecularmente, visando a identificação a nível de espécie. Avaliou-se a patogenicidade de isolados de *D. longicolla* e *D. ueckerae* em vagens e hastes, assim como a capacidade dessas espécies causarem infecção latente. Foram identificadas as espécies *D. longicolla*, *D. ueckerae*, *D. infecunda* e *D. pachirae*. Os isolados de *D. longicolla* e *D. ueckerae* causaram apodrecimento de vagens e grãos na fase de maturação e comprovou-se a ocorrência da infecção latente dessas duas espécies em haste e vagens.

Palavras-chave: etiologia; sementes ; infecção latente

## ABSTRACT

VERSARI, Lucas Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Contribution of *Diaporthe* species to the occurrence of grain rot in green pods and stem breakage in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]**. Adviser: Sergio Herminio Brommonschenkel.

Grain rotting during the grain filling phase has been a recurring problem in the last five soybean harvests, especially in the mid-north region of the state of Mato Grosso, leading to reduced grain quality and yield, resulting in losses of up to 30% in productivity. Also, in the mid-north region of the state of Mato Grosso, during the 2020/2021 and 2021/2022 harvests, a widespread occurrence of soybean stem breakage was reported, both in experimental fields and commercial crops. This breakage compromises mechanized harvesting, leading to a decrease in productivity. Both stem breakage and grain rotting in green pods have been associated with the genus *Diaporthe* as a possible causal agent, as these fungi are frequently recovered from symptomatic tissues. However, to date, the symptoms of stem breakage observed in the field have not been reproduced through inoculations with *Diaporthe* fungal isolates under controlled conditions. Thus, this study aimed to determine the contribution of *Diaporthe* species to the occurrence of grain rotting in green pods and stem breakage in soybean plants. Initially, *Diaporthe* spp. isolates were obtained from soybean plants with symptoms of grain rotting and pod decay, as well as stem breakage, which were then morphologically and molecularly characterized for species identification. The pathogenicity of *D. longicolla* and *D. ueckerae* isolates was evaluated on pods and stems, as well as the ability of these species to cause latent infection. The species *D. longicolla*, *D. ueckerae*, *D. infecunda*, and *D. pachirae* were identified. Isolates of *D. longicolla* and *D. ueckerae* caused pod and grain rot during the maturation phase, and the occurrence of latent infection by these two species in stems and pods was confirmed.

Keywords: etiology ; seeds ; latent infection

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	7
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	10
2.1 A cultura da soja [ <i>Glycine max</i> (L.) Merrill] .....	10
2.2 Características agrícolas do estado de Mato Grosso .....	10
2.3. Podridões de vagens e grãos de soja .....	12
2.4. Lesões da haste de soja.....	14
2.5 O quebramento de haste.....	16
2.6 O gênero <i>Diaporthe</i> .....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	19
3.1 Isolamento e obtenção de uma coleção de cultura .....	19
3.2 Caracterização morfológica.....	20
3.3 Caracterização molecular.....	21
3.3.1 Extração de DNA genômico e amplificação .....	21
3.3.2 Filogenia molecular .....	22
3.4 Efeito da temperatura no crescimento micelial das diferentes espécies de <i>Diaporthe</i> .....	23
3.5 Comprovação da patogenicidade de isolados de <i>Diaporthe</i> spp.....	24
3.5.1 Inoculação por infiltração de vagens.....	24
3.5.2 Inoculação por atomização de esporos.....	25
3.6 Infecção latente em haste e vagens.....	26
3.6.1 Haste.....	26
3.6.2 Vagens.....	28
4. RESULTADOS .....	29
4.1 Isolamentos .....	29
4.2 Caracterização morfológica.....	34
4.3 Análise filogenética .....	38
4.4 Crescimento micelial x temperatura .....	42
4.5 Avaliação da patogenicidade.....	45
4.5.1 Inoculação por infiltração de vagens.....	45
4.5.2 Inoculação por atomização de suspensão de conídios.....	47
4.6 Infecção latente .....	50
5. DISCUSSÃO .....	52
6. CONCLUSÃO.....	59
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60
8. ANEXOS.....	69

## 1. INTRODUÇÃO

A expansão do cultivo da soja no Brasil, ano após ano, tem trazido novos desafios de manejo da cultura, dentre eles, a obtenção de todo o potencial de produção do grande número de variedades lançadas a cada ano. Outro desafio são as inúmeras pragas e doenças que afetam a cultura da soja, e que comprometem o rendimento e qualidade dos grãos (DALL'AGNOL *et al.*, 2016; SAVARY *et al.*, 2019). Outros fatores, como as alterações climáticas frequentes, afetam a quantidade e distribuição de chuvas e a temperatura, pelos impactos diretos no plantio, no estabelecimento da cultura e na ocorrência de pragas e doenças, até a colheita (LULU, 2024).

Nas últimas safras tem se observado a ocorrência de apodrecimento de grãos e vagens na fase final de estabelecimento de lavouras de soja, em especial na região médio-norte do estado de Mato Grosso e Rondônia, desde a safra 2019/2020. Esses sintomas têm sido observados em outras regiões adjacentes, causando redução significativa de produtividade em lavouras com alto potencial produtivo. O apodrecimento de grãos em vagens verdes pode ocorrer em toda a planta, mas com maior intensidade no terço médio e inferior. Os sintomas são observados na fase final de enchimento de grãos, próximo à maturação fisiológica (entre os estádios fenológicos R5.1 e R5.5). Em condições favoráveis, observa-se redução de produtividade de até 20% e perda da qualidade de grãos, gerando níveis de desconto por grãos avariados que chegam a 30% (EMBRAPA, 2021).

Nos isolamentos realizados em laboratório, a partir de tecidos sintomáticos e assintomáticos, tem sido encontrada uma maior frequência dos gêneros *Diaporthe*, *Fusarium* e *Colletotrichum* (VERSARI; WRUCK, 2022; KUDLAWIEC *et al.*, 2023). Ainda não foi publicado qualquer trabalho reproduzindo os sintomas de apodrecimento de grãos na fase de enchimento de grãos (R5 e R6) a partir da inoculação desses fungos.

Mais de 1.000 espécies de *Diaporthe* já foram descritas, obtidas em diferentes regiões do mundo e hospedeiros. Essas espécies podem ter comportamento endofítico, saprófita ou fitopatogênico, dependendo do hospedeiro e de sua predisposição (GOMES *et al.*, 2013). Floyd *et al.* (2022) verificaram que a distribuição geográfica de espécies de *Diaporthe* em cultivos de soja é influenciada pelo clima. Os autores destacam a predominância das espécies *D. caulivora* e *D. sojae* na região Norte dos Estados Unidos, causando o cancro da haste e a podridão do caule em temperaturas amenas, e a espécie *D. longicolla* ocorrendo na região Sul, em temperaturas e umidade mais elevadas,

causando a podridão de grãos a partir do estágio R8 (LEHMAN, 1923), que afeta a qualidade da semente, reduzindo a sua germinação e vigor (SANTOS *et al.*, 2011). A espécie *Diaporthe aspalathi* (sin. *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*) causa o cancro da haste no Brasil (YORINORI *et al.*, 1989; COSTAMILAN *et al.*, 2008).

Petrović *et al.* (2021) identificaram, nos Estados Unidos, diversas espécies de *Diaporthe* já descritas na literatura como causadoras de podridão de grãos em soja (*D. aspalathi*, *D. caulivora*, *D. kongii*, *D. longicolla*, *D. sojæ*, *D. ueckerae*, *D. unshiuensis*) e além disso, identificaram três novas espécies, (*D. bacilloides*, *D. flavescens* e *D. insulistroma*). Esses autores verificaram que múltiplas espécies de *Diaporthe* podem agir juntas na deterioração da semente de soja.

Outro problema que vem ocorrendo na cultura da soja nas últimas safras é o quebramento de haste principal próximo ao nó cotiledonar e muitos profissionais têm associado a possível causa o gênero *Diaporthe*, devido ao frequente isolamento desse fungo em plantas sintomáticas. Os primeiros relatos do quebramento de haste ocorreram na safra 2020/2021 e 2021/2022 na região médio-norte do estado de Mato Grosso. Devido aos primeiros relatos de quebramento nessa região (safra 2020/2021) ter ocorrido uma safra após os primeiros relatos de apodrecimento de grãos e vagens verdes (a partir da safra 2019/2020), o termo utilizado inicialmente para se referir ao sintoma de apodrecimento de grãos e vagens verdes foi “anomalia”, que erroneamente foi adotado para o quebramento de haste, gerando desentendimento sobre os problemas. Nas safras posteriores os problemas de apodrecimento de grãos e vagens verdes (PGV) e quebramento de haste foram relatados separadamente, uma vez que podem ocorrer de forma independente, cultivares de soja com alta incidência de PGV não serem suscetíveis ao quebramento de haste, ou materiais com uma elevada incidência de quebramento de haste apresentar baixa suscetibilidade ao PGV.

As plantas quebradas após algumas semanas podem apresentar lesões na região do quebramento, com a presença de sinais de *Diaporthe* spp. Têm sido também observados em plantas quebradas a presença de estrias necróticas na parte periférica do tecido lenhoso das hastes, e em plantas sem quebramento também (MEYER *et al.*, 2024). Como plantas com quebramento apresentaram os sintomas citados acima e como são recuperados recorrentemente *Diaporthe* spp. dos tecidos com lesões, *Diaporthe* spp. foi sugerido como o agente causal. Portanto, até o momento não foram reproduzidos os sintomas de quebramento a partir de inoculações com esse fungo.

Estudos sobre interação planta-fungo (*Diaporthe* spp.) são necessários para compreender o tipo de associação estabelecida entre o fungo e a planta hospedeira, bem como a contribuição das espécies de *Diaporthe* na ocorrência da podridão de vagens e grãos entre os estádios R5.1 e R5.5 e o quebramento de haste. Isolados de *Diaporthe* spp. já foram detectados em hastes de soja assintomáticas como endofítico ou patógeno latente (SINCLAIR, 1988, 1991; LEITE *et al.*, 2013; KONTZ *et al.*, 2016).

A primeira etapa de pesquisas sobre interação planta-fungo é a identificação do microrganismo de interesse. Atualmente, as espécies de *Diaporthe* são determinadas a partir de análises filogenéticas utilizando sequências de nucleotídeos de diferentes loci gênicos e complementando com a caracterização morfológica de estruturas reprodutivas do fungo observadas em meio de cultura. Os principais marcadores filogenéticos usados para identificação de *Diaporthe* são: o espaçador interno transcrito (ITS) do DNA, os genes para o fator de alongamento 1-alfa (TEF1), a calmodulina (CAL) e a beta-tubulina 2 (TUB2) (GOMES *et al.*, 2013).

Com a identificação da(s) espécie(s) fúngica(s), seleciona-se qual(is) microrganismo(s) está(ão) em associação constante com o problema (sintomas). Posteriormente, são realizados estudos etiológicos para confirmar se o(s) microrganismo(s) selecionado(s) é(são) o(s) agente(s) causal(is). Os resultados gerados são importantes para técnicos e produtores na elaboração de estratégias de manejo e redução de custos, para os programas de melhoramento genético no posicionamento e desenvolvimento de cultivares, e o meio ambiente/consumidor na prevenção de epidemias que culminam no aumento de aplicações de produtos químicos, aumento de custos e/ou redução da qualidade e quantidade de produção de grãos.

O objetivo deste trabalho foi estudar a contribuição de espécies de *Diaporthe* na ocorrência do apodrecimento de grãos em vagens verdes e no quebramento de haste de plantas de soja. Para tanto, foram obtidos isolados pertencentes ao gênero *Diaporthe* a partir de amostras de plantas com sintomas de apodrecimento de grãos em vagens verdes e quebramento de haste. Os isolados foram identificados em nível de espécie, utilizando a caracterização morfológica e molecular. Foram realizados testes de patogenicidade em condições controladas, bem como estudos para determinar a ocorrência de infecção latente em hastes e vagens de soja e as condições que favorecem o desenvolvimento dos sintomas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das culturas mais importantes do mundo, desempenhando um papel fundamental na segurança alimentar e no desenvolvimento econômico de diversos países. Seu alto teor proteico e lipídico faz com que seja amplamente utilizada na alimentação humana e animal, além de ser matéria-prima para a produção de óleos vegetais, biocombustíveis e insumos industriais (HARTMAN *et al.*, 2011; FAO, 2021). No setor agropecuário, o farelo de soja se destaca como principal ingrediente na formulação de rações, contribuindo significativamente para a nutrição animal e a produtividade da pecuária (ROSTAGNO *et al.*, 2011). Além disso, sua versatilidade permite a utilização na indústria farmacêutica e cosmética, ampliando seu valor econômico e estratégico (GOLDSMITH, 2008). Diante de sua relevância global, a expansão da área cultivada e os avanços em biotecnologia têm impulsionado a produtividade da soja, consolidando-a como uma das principais commodities agrícolas no mundo (USDA, 2023).

A produção mundial de soja na safra 2023/24 foi de 395 milhões de toneladas. O Brasil se destacou como maior produtor, representando 39% desse total, com 153 milhões de toneladas de grãos e produtividade média de 3,32 toneladas por hectare, em uma área de 46,1 milhões de hectares (USDA, 2024).

O estado de Mato Grosso é o maior produtor nacional de soja, responsável por aproximadamente 30% da produção nacional, com uma área plantada de 12 milhões de hectares e produção de 39,3 milhões de toneladas, safra 2023/24 (CONAB, 2024). O cultivo em extensas áreas de terras, ano após ano, combinado com as condições climáticas enfrentadas durante os meses em que a soja é cultivada na região Centro-Oeste do Brasil, tem tornado o manejo fitossanitário um desafio, com as doenças apresentando um alto potencial de dano econômico.

### 2.2 Características agrícolas do estado de Mato Grosso

O estado de Mato Grosso possui uma grande diversidade de solos devido à extensão territorial e às condições ambientais variáveis. Os solos predominantes na região são os Latossolos, Argissolos e Neossolos, que apresentam diferentes níveis de fertilidade e potencial agrícola. De um modo geral, as áreas cultivadas por soja no estado

são predominantemente Latossolos, caracterizados por uma alta profundidade e baixa fertilidade natural (SANTOS *et al.*, 2018).

O estado de Mato Grosso abriga três grandes biomas brasileiros: o Cerrado, a Amazônia e o Pantanal, cada um com características climáticas e edáficas particulares. O bioma Pantanal, localizado no sudoeste do estado, é caracterizado por um clima tropical semiúmido, com temperaturas médias entre 22°C e 32°C e precipitação variando entre 1.000 e 1.400 mm anuais (MIRANDA *et al.*, 2021). O regime hidrológico da região é fortemente influenciado pelo ciclo de cheias e vazantes, com inundações sazonais que impactam a composição dos solos e a vegetação local (ALHO; SILVA, 2019).

O Cerrado mato-grossense ocupa grande parte do estado e apresenta um clima tropical sazonal, com duas estações bem definidas: uma chuvosa, de outubro a abril, e outra seca, de maio a setembro (ALMEIDA *et al.*, 2020). A temperatura média anual é de 22°C / 23°C, podendo a temperatura máxima ultrapassar 40 °C, e a precipitação anual entre 1.200 e 1.800 mm (MARCUIZZO *et al.*, 2012; CHOU *et al.*, 2024). Esse bioma é fundamental para a produção agropecuária, sendo uma das regiões mais exploradas para o cultivo de grãos e pecuária extensiva.

A porção norte do estado está inserida no bioma Amazônia, encontrando-se o município de Sorriso (MT) na área de transição entre o Cerrado e Amazônia, e o município de Sinop (MT) com 100% de sua área dentro do bioma Amazônia. O bioma Amazônia é caracterizado por um clima equatorial úmido, com temperaturas elevadas ao longo de todo o ano (média de 25°C a 29°C) e altos índices pluviométricos, com uma média anual de 2230 mm acumulado com base na série histórica dos últimos dez anos, registrado pela estação meteorológica da Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop (MT) (EMBRAPA, 2025). O saldo anual de chuvas nessa região pode se aproximar de 3000 mm. A elevada umidade, combinada com altas temperaturas, favorece uma densa cobertura vegetal e uma grande biodiversidade (COSTA *et al.*, 2019).

A altitude do estado de Mato Grosso varia entre 100 e 1.000 metros acima do nível do mar, com as áreas mais elevadas concentradas na região do Planalto dos Parecis e Chapada dos Guimarães (SANTOS *et al.*, 2018). Essas diferenças altimétricas influenciam diretamente o clima e a distribuição das chuvas no estado. A distribuição pluviométrica segue um padrão sazonal, com volumes mais elevados no norte do estado, localizado dentro do bioma Amazônico, e menores no sul, na região do Pantanal (SOUZA *et al.*, 2013).

As características topográficas e climáticas da região médio-norte do estado têm atraído e intensificado a produção agrícola, predominando o cultivo de soja/milho em sucessão e/ou soja seguido de algodão em uma menor proporção de área. Embora as condições climáticas da região favoreçam a produção vegetal, as altas temperaturas e as chuvas intensas, aliadas ao cultivo contínuo da soja em grandes áreas, proporcionam um ambiente favorável ao surgimento de novas doenças e à ocorrência de epidemias (ROTH *et al.*, 2020; KUDLAWIEC; ASCARI; MÜLLER, 2023).

Na região Centro-Oeste, o cultivo da soja ocorre entre os meses de setembro e março. Nesse período, a fase reprodutiva (florescimento, enchimento de grãos e maturação) coincide com os meses mais chuvosos, novembro e dezembro, condições favoráveis para o desenvolvimento de infecções fúngicas em diferentes partes da planta.

Devido a esse cenário, associado à constante mudança de cultivares e ajustes nos sistemas de produção, o apodrecimento de grãos e vagens verdes, e o quebramento de haste têm acometido lavouras de soja na região médio-norte do estado de Mato Grosso e Rondônia, de forma epidêmica (LULU, 2024). Detalhes desses problemas fitossanitários são descritos a seguir:

### **2.3. Podridões de vagens e grãos de soja**

As podridões de grãos e vagens na fase de maturação da soja (R8) já são relatadas há muito tempo no Brasil e em outros países, de ocorrência mais notável quando a fase que antecede a colheita apresenta altos índices pluviométricos. Em inglês é denominada “pod and seed decay” (PSD), tendo sido relatada por Sinclair (1993) como uma importante doença que acomete a cultura da soja causada por *Diaporthe longicolla* afetando lavouras na região de Illinois - USA, desde 1969. No Brasil, essa doença é observada desde 1980, como evidenciado pelo trabalho de Henning (1980).

No Brasil, isolamentos efetuados a partir de vagens e grãos sintomáticos têm demonstrado a presença de diferentes fungos, com a predominância de *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp. e *Diaporthe* spp. (CORTINA *et al.*, 2013; KUDLAWIEC *et al.*, 2023).

Existem várias espécies de *Diaporthe* com potencial de causar a podridão de grãos na fase de maturação, como relatado por Petrović *et al.* (2021). Esses autores identificaram as espécies *D. aspalathi*, *D. caulivora*, *D. kongii*, *D. longicolla*, *D. sojae*, *D. ueckerae*, *D. unshiuensis* e três novas espécies, *D. bacilloides*, *D. flavescens* e *D. insulstroma*, causando podridão de grãos em soja nos Estados Unidos. A espécie *D.*

*longicolla* normalmente é a mais predominante, por fatores como a capacidade de esporulação e capacidade de crescimento em altas temperaturas.

Desde a safra 2019/2020, o apodrecimento de grãos e vagens verdes tem sido observado na região médio-norte do estado de Mato Grosso e Rondônia. O problema apresenta ocorrência e sintomatologia diferente do PSD, sendo caracterizado pelo surgimento manchas de coloração castanho-amarelada nas vagens ainda verdes, que evoluem para o apodrecimento da vagem e o desprendimento precoce da semente do tegumento da vagem. As vagens com esses sintomas podem ocorrer em toda a planta, mas são mais comuns nos terços médio e inferior, iniciando-se na fase final de enchimento de grãos, próximo à maturação fisiológica (R5.1 e R5.5) (WRUCK *et al.*, 2022). Esse apodrecimento de vagens está associado a fatores relacionados ao ambiente favorável e à sensibilidade de determinadas cultivares, podendo causar redução de produtividade de até 20%, e perda da qualidade de grãos, gerando níveis de desconto por grãos avariados que chegam a 30% (EMBRAPA, 2021).

Os grãos dentro das vagens deterioradas também podem apresentar elevados índices de enrugamento, em decorrência da exposição das plantas às condições de elevadas temperaturas (acima de 30 °C) durante a fase de enchimento de grãos. Esse enrugamento normalmente é mais intenso sob déficit hídrico, mas pode também ocorrer em condições normais de disponibilidade hídrica (EMBRAPA, 2022).

Diversos ensaios foram conduzidos sob condições naturais de campo em diferentes localidades da região médio-norte do estado de Mato Grosso e em São Miguel do Guaporé – RO e Ariquemes – RO, durante a safra 2022/23, visando entender o comportamento de diferentes cultivares frente ao apodrecimento de grãos em vagens verdes. Foram avaliadas 42 cultivares geneticamente modificadas e 12 cultivares convencionais, semeadas em três épocas de plantio diferentes (com intervalo de aproximadamente 10 dias entre cada época). Observou-se comportamento diferencial entre as cultivares para o apodrecimento de grãos nos diferentes locais de avaliação, evidenciando a presença de variabilidade genética entre os genótipos avaliados. Constatou-se também uma maior incidência de apodrecimento de grãos e maior produtividade de grãos nas semeaduras mais precoces, embora, quando descontado os grãos avariados, a produtividade de grãos tenha sido similar nas três épocas de semeadura. Embora o grupo de maturidade (ciclo precoce, médio e tardio) não tenha mostrado correlação com a incidência de apodrecimento de grãos, cultivares com hábito de crescimento determinado e semi-determinado apresentaram menor incidência de

grãos apodrecidos em comparação com cultivares de crescimento indeterminado (NETO *et al.*, 2023).

Isolados fúngicos pertencentes aos gêneros *Diaporthe*, *Fusarium* e *Colletotrichum* também têm sido os fungos recuperados de grãos e vagens verdes com sintomas de apodrecimento (VERSARI; WRUCK, 2022; KUDLAWIEC *et al.*, 2023). Todavia, ainda não foi publicado nenhum trabalho reproduzindo os sintomas de apodrecimento de grãos na fase de enchimento de grãos (R5 e R6) a partir da inoculação desses fungos.

#### **2.4. Lesões da haste de soja**

Diferentes tipos de lesão em haste de soja associadas a diferentes patógenos já foram descritas. O cancro da haste foi registrado pela primeira vez na década de 1940 em Iowa, sendo o agente causal identificado inicialmente como *Diaporthe phaseolorum* var. *batatais*; posteriormente, o nome do fungo foi estabelecido como *D. phaseolorum* var. *caulivora* (BACKMAN *et al.*, 1985). *Diaporthe caulivora* (sin. *Diaporthe phaseolorum* (Cke. & Ell.) var. *caulivora* (Athow & Cald.) causa o cancro da haste no norte dos Estados Unidos, enquanto a espécie *D. aspalathi* (sin. *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*) causa cancro no sul dos Estados Unidos (KEELING, 1988; FLOYD *et al.*, 2022). Essas espécies também foram relatadas como causadoras do cancro da haste em cultivos de soja no Brasil (YORINORI *et al.*, 1989; COSTAMILAN *et al.*, 2008).

O cancro da haste causado por *D. aspalathi* já foi a principal doença da soja no Brasil, devido à sua severidade de ocorrência e capacidade de dispersão do patógeno. Foi relatada pela primeira vez no Brasil em lavouras de soja no estado do Paraná em 1989 e na safra seguinte, foi observado em quase todas as áreas produtoras de soja brasileiras, causando perdas próximas de 100% em alguns campos. O sintoma inicial é caracterizado por estrias ou pontuações de cor negra a castanho-avermelhada, medindo de 1 a 2 mm. Na região do entre-nos as lesões evoluem para manchas elípticas ou alongadas, com centro negro a castanho-avermelhado escuro e margem mais clara, com aparência de anasarca. Mais recorrente são infecções nos pontos de inserção dos ramos laterais e dos pecíolos, causando morte desses ramos e das folhas. As lesões evoluem na haste principal para cima e para baixo, atingindo a medula e causando a morte da planta. A coloração da medula necrosada varia de castanho-avermelhada em planta ainda verdes a castanho-claro ou arroxeadas em hastes secas, abrangendo uma área da

medula muito maior que os sintomas observados externamente. As folhas permanecem presas à planta (YORINORI *et al.*, 1989, 1996).

O desenvolvimento de cultivares de soja resistentes que foram comercializadas sete a oito anos após o primeiro relato da doença, levou ao controle efetivo desta doença no Brasil. Atualmente, toda cultivar de soja para ser registrada e liberada para cultivo pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares, uma agência governamental dentro do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, deve estar caracterizada como resistente ao cancro da soja causado por *D. aspalathi*, conforme as instruções.

A incidência de cancro da haste causado por *D. aspalathi* e o potencial de dano que pode causar dependem muito de condições climáticas favoráveis, da suscetibilidade das cultivares e do potencial de inóculo do fungo em sementes e/ou restos de cultura da safra anterior. Em condições favoráveis, chuvas frequentes após o plantio, as plântulas emergidas podem ser infectadas por propágulos do fungo e quando bem-sucedida a infecção, os primeiros sintomas são observados após 15 dias, e evoluem lentamente, formando os cancos e causando a morte de plantas entre 50 e 80 dias após a infecção, nos estádios reprodutivos. Nas cultivares precoces, as plantas morrem mais próximo do final do ciclo apresentando menores perdas em relação às cultivares tardias. Cultivares altamente suscetíveis (SR-23 e Guavira (MS SR-18), podem ter perdas totais. Quando não ocorre condições favoráveis à infecção até a fase de florescimento, as infecções a partir desse estágio não comprometem a produtividade (YORINORI, 1990).

O cancro da haste causado por *D. caulivora* foi relatado pela primeira vez no Brasil nos municípios Passo Fundo e Coxilha no Rio Grande do Sul (COSTAMILAN *et al.*, 2008). As plantas com esse cancro apresentam folhas marrons murchas com descoloração marrom-avermelhada e necrose da metade inferior do caule. As perdas de rendimento por *D. caulivora* podem ser significativas, especialmente quando as lesões de cancro se desenvolvem precocemente, levando ao murchamento e morte da planta ainda no período vegetativo (VIDIĆ *et al.*, 2013).

Os fungos *D. caulivora* e *D. aspalathi* sobrevivem nos restos de cultura de soja infectados e também nas sementes, sendo essas as principais fontes de dispersão dos patógenos (YORINORI, 1996). O uso de cultivares resistentes e a rotação de culturas são as principais medidas de controle.

Silva (2021) fez o primeiro relato de *D. ueckerae* associado a lesões de haste e a podridão de grãos em vagens maduras, na região médio-norte do estado de Mato Grosso.

A seca de vagens e hastes da soja causada por *Diaporthe sojae* (= *D. phaseolorum* var. *sojae*) é outra doença de ocorrência na cultura da soja. *Diaporthe sojae* é um patógeno relativamente fraco ou não patogênico em sementes (HOBBS *et al.*, 1985 , SANTOS *et al.*, 2011 )

## 2.5 O quebramento de haste

Desde a safra 2020/2021, tem sido relatado na região médio-norte do estado de Mato Grosso, em algumas áreas e cultivares específicas, o quebramento de hastes na soja. Esse quebramento é caracterizado pela maior fragilidade de sustentação da planta na região próxima ao nó cotiledonar, e ocorre normalmente nos estádios reprodutivos da soja. Nesse estágio as plantas estralam ao quebrar após ser exercida uma leve pressão lateral ou por ação de ventos. Mesmo após a quebra da haste principal as plantas se mantêm vivas e podem completar seu ciclo, porém, a colheita mecanizada é dificultada devido a inclinação da parte aérea das plantas em direção ao solo. Em condições de veranico, stress hídrico acompanhado de altas temperaturas, as plantas quebradas têm o ciclo encurtado, secando precocemente tendo o enchimento de grãos interrompido, o que resulta em uma alta porcentagem de vagens chochas (MEYER *et al.*, 2024).

Devido aos primeiros relatos de quebramento nessa região (safra 2020/2021) terem ocorrido uma safra após os primeiros relatos de apodrecimento de grãos e vagens verdes (a partir da safra 2019/2020), o termo utilizado inicialmente para se referir ao problema de apodrecimento de grãos e vagens verdes foi “anomalia”, que foi posteriormente adotado também para o quebramento de haste, o que gerou desentendimento sobre a etiologia dos problemas. Nas safras posteriores verificou-se que o apodrecimento de grãos e vagens verdes (PGV) e quebramento de haste possuem etiologias distintas, uma vez que podem ocorrer de forma independente; cultivares de soja com alta incidência de PGV não apresentam quebramento de haste, ou materiais com uma elevada incidência de quebramento de haste apresentam baixa incidência de PGV. Alguns consultores, patrocinados por empresas, continuam erradamente associando quebramento de haste com o apodrecimento de grãos que ocorre na fase de enchimento de grãos.

As plantas quebradas após algumas semanas podem apresentar lesões na região do quebramento, com presença de sinais de *Diaporthe* spp. Nessas plantas, têm sido observado também a presença de estrias necróticas na parte periférica do tecido lenhoso das hastes; porém as estrias também podem ser observadas em plantas sem

quebramento (MEYER *et al.*, 2024). Devido a esses sintomas citados acima, ser encontrados em plantas com quebramento, e nos isolamentos em laboratório ser recuperado recorrentemente *Diaporthe* spp., tem-se erroneamente associado *Diaporthe* spp. também as estrias. Todavia, diferentes instituições de pesquisa não conseguiram reproduzir os sintomas de estrias e quebramento a partir da inoculação de *Diaporthe* spp. em plantas de soja, utilizando diferentes métodos de inoculação.

Grande parte dessa confusão em torno da etiologia das estrias e quebramento deve-se ao incorreto entendimento da biologia das espécies de *Diaporthe*. Por exemplo *Diaporthe* spp. são isolados de hastes de soja assintomáticas, onde pode estar presente como endófito ou patógeno latente (SINCLAIR, 1988, 1991; LEITE *et al.*, 2013; KONTZ *et al.*, 2016).

Na associação como endófitos, os fungos podem se desenvolver no tecido do hospedeiro sem causar danos e, muitas vezes, oferecem benefícios, como a produção de metabólitos secundários que promovem o crescimento vegetal, dentre outros benefícios (CHITNIS *et al.*, 2020). Enquanto na infecção latente, o fungo infecta o tecido do hospedeiro sem causar sintomas até o momento em que condições ambientais, nutricionais ou estágio de maturidade do hospedeiro ou patógeno, favorecem o seu desenvolvimento e surgimento de sintomas ou sinais (AGRIOS, 1998). Nessa fase de latência o fungo pode estar presente no hospedeiro sem causar alterações fisiológicas, ou na forma quiescente, retomando as suas atividades quando se inicia a maturação fisiológica. Diversos patógenos de soja pode causar infecção latente. Por exemplo, *Colletotrichum* spp. e *Cercospora* spp. infectam a soja no início do ciclo da cultura e os sintomas causados por esses patógenos são observados apenas na fase de maturação fisiológica do hospedeiro. *Colletotrichum* spp. podendo ainda causar sintomas em qualquer fase do desenvolvimento do hospedeiro sob condições de estresse, ou em cultivares muito suscetíveis (KLINGELFUSS; TORINORI, 2001; GOSSEN *et al.*, 2009).

A ocorrência de infecções latentes tem sido evidenciada pelo uso de herbicidas dessecantes, que aceleram a senescência do tecido vegetal, favorecendo o desenvolvimento de fungos latentes no tecido da planta, e consequente observação da evolução de sintomas, isolamento e identificação dos fungos associados (SINCLAIR, 1991).

## 2.6 O gênero *Diaporthe*

Fungos do gênero *Diaporthe* fazem parte do filo Ascomycota, sub-filo Pezizomycotina, classe Sordariomycetes, ordem Diaporthales e são caracterizados como fungos sexuais, dos quais a maioria possui sua forma assexual conhecida (SENANAYAKE *et al.*, 2017). Anteriormente o nome *Phomopsis* spp. era utilizado na identificação com base na presença de picnídios e nos diferentes tipos de conídios (alfa, beta e gama). Por outro lado, *Diaporthe* spp. se referia a fase sexuada (teleomórfica) com a formação de peritécio, ascas e ascósporos. Atualmente, *Diaporthe* é o nome genérico adotado por recomendação de um comitê especializado (ROSSMAN *et al.*, 2015).

A maioria das espécies de *Diaporthe* não formam corpos de frutificação em meios de culturas artificiais, sendo necessária a utilização de substratos para induzir a produção de picnídios e/ou peritécios (GOMES *et al.*, 2013). Além disso, a diferenciação de espécies somente com base em caracteres morfológicos é difícil. Dessa forma, é cada vez mais frequente a classificação de espécies de *Diaporthe* com base em uma combinação de dados morfológicos e sequências de DNA tais como espaçadores internos transcritos (ITS), parte do gene do fator de alongação da tradução 1- $\alpha$  (*tef1- $\alpha$* ), a  $\beta$ -tubulina (*tub2*), a calmodulina (*cal*) e a histona H3 (*his3*) (HONGSANAN *et al.*, 2023).

Dentro das inúmeras espécies descritas, no Brasil já foram relatadas causando doença de soja as espécies *D. longicolla*, *D. caulivora*, *D. aspalathi*, *D. phaseolorum*, *D. sojae*, *D. ueckerae*, *D. citri*, *D. endophytica* e *D. infertilis*. (FARR; ROSSMAN, 2025).

Nos últimos anos, muitas espécies de *Diaporthe* passaram por reclassificação taxonômica devido a identificações incorretas, realizadas muitas vezes com base apenas na caracterização morfológica e gama de hospedeiros. Um exemplo disso é a espécie *D. caulivora*, que, no primeiro relato em soja, foi referida como *Diaporthe phaseolorum* var. *batatais*; depois, foi reclassificada como *D. phaseolorum* var. *caulivora* (BACKMAN *et al.*, 1985) e, por último, elevada à categoria de espécie como *Diaporthe caulivora*, com um neótipo designado (SANTOS *et al.*, 2011). Rensburg *et al* (2006) propuseram que *D. phaseolorum* var. *meridionalis* fosse tratada como espécie *Diaporthe aspalathi*.

A espécie *D. ueckerae* (sin. *D. miciriae*) foi descrita por Udayanga *et al.* (2015) em um estudo taxonômico de isolados recuperados de soja e melão (*Cucumis melo*). *Diaporthe miciriae* foi considerado sinônimo de *D. ueckerae* por Gao, Liu e Cai (2016) Estudos filogenéticos realizados por esses autores demonstraram a identidade de

isolados identificados anteriormente como *D. ueckerae* e *D. miciriae* (Thompson et al., 2015), sendo o nome *D. ueckerae* proposta por Udayanga et al. (2015), por ter sido a espécie primeiro descrita. O nome *D. ueckerae* foi dado em homenagem ao micologista Francis A. Uecker, em reconhecimento à sua contribuição na taxonomia e filogenia do gênero *Diaporthe* (UDAYANGA et al., 2015).

Existem mais de mil espécies de *Diaporthe* descritas, obtidas de diferentes regiões do mundo, de plantas, animais, humanos e ecossistemas. Várias espécies de *Diaporthe* são de grande importância fitossanitária, com uma ampla gama de hospedeiros vegetais e diversidade genética (PIOLI et al., 2003). Estes fungos podem ser encontrados como saprofitos, patogênicos e em latência na planta (GOMES et al., 2013; SINCLAIR, 1991). A distribuição geográfica de espécies de *Diaporthe* pode ser influenciada por condições ambientais como temperatura. Como observado por Morgan-Jones (1989), o cancro da haste em lavouras de soja na região norte dos Estados Unidos era causado por *D. caulivora* (temperaturas amenas), enquanto na região sul o cancro da haste era causado pela espécie *D. aspalathi* (temperaturas mais elevadas).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Isolamento e obtenção de uma coleção de cultura

Plantas de soja inteiras ou parte (haste, vagens e/ou grãos) foram coletadas durante as safras 2022/23 e 2023/24, em diferentes estados do Brasil, sendo a maioria das amostras oriundas de áreas de cultivos situadas na região médio-norte do estado de Mato Grosso. Realizou-se o isolamento direto e indireto dos fungos associados aos tecidos de plantas com sintomas de quebraimento de haste e cancro da haste, de hastes assintomáticas, vagens e grãos sintomáticos (com sintoma de apodrecimento na fase de enchimento de grãos R5 – R6) e assintomáticos em meio Batata Dextrose Ágar (ABDA) acidificado com ácido láctico (pH=4,5).

No isolamento direto, foram selecionadas estruturas fúngicas presentes nas amostras de plantas e transferidas para placas de Petri com meio ABDA. Para o isolamento indireto, foram seccionados fragmentos de aproximadamente 0,5 cm<sup>2</sup> de haste e vagem, e grão inteiro ou partido, e submetidos à desinfestação superficial em álcool 70% (1 minuto); hipoclorito de sódio a 2% (2 minutos) e três lavagens consecutivas em água destilada autoclavada. As amostras desinfestadas foram colocadas sobre papel filtro esterilizado para retirar o excesso de água e transferidas para placas de Petri com

meio ABDA. Após três dias de incubação a 25 °C, de cada placa foi transferido um pequeno fragmento de micélio da borda de colônias fúngicas com características distintas entre si, para placas de Petri com meio Ágar-Água e incubadas por dois dias. Em seguida os isolados obtidos foram purificados a partir de ponta de hifa, transferindo-as para o meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA). As culturas puras foram armazenadas com sete dias de idade, em geladeira e ultrafreezer. Utilizou o método de Castellani (CASTELLANI, 1968) para o armazenamento em geladeira a 4 °C, com a preservação de discos de micélio em microtubos com volume de 2,0 mL contendo 1,0 mL de água miliq. Discos de micélio foram transferidos para microtubos de 2,0 mL de volume, contendo 1,0 mL de glicerol 50% que foram armazenados em ultrafreezer (- 80 °C).

### **3.2 Caracterização morfológica**

Os isolados de *Diaporthe* spp. foram repicados em meio de cultura BDA e meio ágar-água + haste de funcho (*Foeniculum vulgare*), e incubados a 25 °C em fotoperíodo de 12 horas sob luz negra (315 nm). A caracterização fenotípica dos isolados foi realizada após vinte dias de incubação. Foram avaliadas as características culturais: cor e textura da colônia, e a produção de corpos de frutificação (picnídios/peritécios) no meio de cultivo BDA, enquanto no meio ágar-água + funcho foi avaliada a formação de picnídios/peritécios e tipo de conídios. Para as características conidiais foram preparadas lâminas semi-permanentes usando lactoglicerol como líquido de montagem.

Foram avaliados os tipos de conídios produzidos (alfa, beta e gama) e tamanho de conídios presentes em picnídios formados em hastes de funcho, com o auxílio de um microscópio óptico com aumento de quatrocentas vezes. Foram realizadas medições de 50 conídios por isolado (espessura e comprimento). As medições dos conídios (comprimento e largura) foram realizadas com o auxílio do software Image-Pro Insight 9.

### 3.3 Caracterização molecular

#### 3.3.1 Extração de DNA genômico e amplificação

O DNA genômico foi extraído da massa de micélio crescida em meio BDA, utilizando o protocolo de Cenis (1992) com adaptações. A quantidade e a qualidade do DNA foram verificadas utilizando espectrofotômetro (Nanodrop) e análise em gel de agarose a 2%. Foram utilizados três marcadores genômicos propostos por Gomes *et al.* (2013) para a análise filogenética e identificação molecular de *Diaporthe* a nível de espécie. Os iniciadores ITS5 e ITS4 (WHITE *et al.*, 1990) foram utilizados para amplificar a região do espaço interno transcrito (ITS). Os iniciadores EF1-728F e EF1-986R (CARBONE; KOHN, 1999) foram usados para amplificar parte do gene do fator de alongamento de tradução 1- $\alpha$  (TEF1) e parte do gene da calmodulina (CAL) foram sequenciados utilizando os iniciadores CAL-228F e CAL-737R (CARBONE; KOHN, 1999).

As reações de amplificação possuíam um volume final de reação de 10  $\mu$ L. Foram utilizados 1 x tampão Taq com KCl (Sinapse Inc.), 1,0 mM de  $MgCl_2$ , 200  $\mu$ M de dNTPs, 0,3  $\mu$ L de cada primer (na concentração de 10  $\mu$ M/ $\mu$ L), 0,25 U de Sinapse Inc Platus Taq DNA Polymerase, 30 ng de DNA genômico e completando o volume de reação 10  $\mu$ L com água Milli-Q®.

A reação foi processada em um termociclador Applied Biosystems™ Veriti™ 96-Well, utilizando as seguintes condições: 30 segundos a 94 °C, 40 ciclos: desnaturação 30 segundos a 95 °C, anelamento 30 segundos, extensão 40 segundos a 72 °C e extensão final 7 minutos a 72 °C. A temperatura de anelamento foi diferente para cada iniciador, ITS (55 °C), TEF1 (58 °C) e CAL (56 °C).

O produto da reação de PCR (Polymerase Chain Reaction) foi visualizado através de eletroforese horizontal em gel de agarose a 2%, submetido a corrente elétrica de 80 V por 45 minutos em solução tampão 1x Tris-Acetato-EDTA (TAE). Para a visualização das bandas de DNA, o gel foi corado com brometo de etídio a 0,05% (v/v) e posteriormente analisado sob luz ultravioleta (UV) em um transiluminador de gel. A comparação do tamanho dos fragmentos amplificados foi realizada com a utilização de um marcador de peso molecular (1 kb DNA Ladder).

Os produtos de PCR foram purificados e as reações de sequenciamento foram realizadas usando o BigDye™ Terminator v 3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, USA) e oligonucleotídeos específicos para cada gene.

### 3.3.2 Filogenia molecular

A qualidade das sequências de nucleotídeos obtidas foi analisada utilizando o software MEGA v7.02 (KUMAR *et al.*, 2016). Foram verificadas possíveis inconsistências nos eletroferogramas, como sinais de baixa qualidade, picos sobrepostos e regiões com alta ambiguidade. Sempre que necessário, foram realizadas correções manuais para garantir a precisão dos dados antes da etapa de alinhamento ou novos sequenciamentos.

Após a verificação e edição das sequências, os arquivos foram organizados no formato FASTA, gerando um arquivo específico para cada gene analisado (ITS), (TEF1) e (CAL). Esses arquivos incluíram tanto as sequências dos isolados obtidos neste estudo quanto sequências de isolados de referência disponíveis em bases de dados públicas (ANEXO 1), como NCBI GenBank. A seleção dos isolados de referência foi baseada em estudos filogenéticos do gênero já publicados (GOMES *et al.*, 2013; UDAYANGA *et al.*, 2015).

Foi gerado um arquivo no formato FASTA com as sequências concatenadas (ITS, TEF1 e CAL). As sequências foram alinhadas utilizando o algoritmo MUSCLE no pacote msa do R, e a matriz de alinhamento resultante foi convertida para o formato phyDat, necessário para os métodos filogenéticos subsequentes. O modelo ideal para os conjuntos de dados de sequências alinhadas foi determinado com o programa JModelTest2 (POSADA, 2008), conforme critério de informação de Akaike (AIC). A seguir, foi calculada uma matriz de distâncias com o modelo JC69 (Jukes-Cantor 1969) por meio da função `dist.ml()`, e com essa matriz foi construída uma árvore inicial utilizando o método Neighbor-Joining (NJ). Posteriormente, a topologia da árvore foi otimizada pelo método de Máxima Verossimilhança (ML), aplicando o modelo HKY (Hasegawa-Kishino-Yano), que permite variação nas frequências das bases nitrogenadas, além de ajustes na proporção de sítios invariáveis (`optInv = TRUE`) e na heterogeneidade das taxas de substituição (`optGamma = TRUE`). O enraizamento da árvore foi realizado utilizando como grupo externo a sequência de *Diaporthella corylina* (CBS 121124), com base em sua posição como família irmã em Diaporthales (VASILYEVA; ROSSMAN; FARR, 2007), permitindo estabelecer um ponto de referência evolutivo dentro do clado analisado. Para avaliar o suporte filogenético das relações inferidas, foi conduzida uma análise de bootstrap com 1000 réplicas, utilizando o procedimento de rastreamento implementado na função `bootstrap.pml()`, e os valores de suporte foram obtidos com `prop.clades()`, sendo posteriormente convertidos para formato

percentual e inseridos nos nós da árvore. A árvore final foi visualizada com o pacote ggtree, onde as pontas foram rotuladas com os nomes dos isolados, enquanto os valores de bootstrap foram posicionados próximos aos respectivos ramos internos. Finalmente, a árvore filogenética foi exportada em formato PDF com alta resolução (600 dpi) para facilitar a análise e interpretação dos dados. Essa abordagem permitiu a inferência de relações evolutivas robustas entre os isolados estudados, garantindo maior confiabilidade na interpretação da estrutura filogenética do grupo analisado.

A árvore filogenética foi gerada e posteriormente editada no software Adobe Illustrator para melhor interpretação e apresentação dos resultados. A identificação dos isolados obtidos foi feita com base na similaridade genética e no suporte estatístico dos agrupamentos.

### **3.4 Efeito da temperatura no crescimento micelial das diferentes espécies de *Diaporthe***

De cada isolado, foram transferidos discos de micélio com 5 mm de diâmetro, obtidos de colônias com sete dias de idade, para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA. As placas foram incubadas em diferentes temperaturas (20 °C, 24 °C, 28 °C, 32 °C e 36 °C) no escuro. As avaliações do crescimento micelial foram realizadas durante quatro dias, com um intervalo de 24 horas entre cada avaliação. Com o auxílio de um paquímetro digital foi aferido o diâmetro médio da colônia em duas direções perpendiculares.

O experimento foi conduzido segundo o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial (temperatura x isolados), com três repetições, cada repetição representada por uma placa de Petri. Foram apresentados os resultados da última avaliação. Os dados de medições (mm) foram importados para o software R e aplicado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e de homoscedasticidade (Teste de Levene). Para corrigir os erros de normalidade os dados foram transformados para raiz quadrada ( $x$ ). Posteriormente foi realizada a análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% ( $p < 0.05$ ). Foram utilizados os pacotes multcomp e emmeans para a realização do teste de Tukey e a obtenção das estimativas de médias ajustadas, respectivamente. A significância estatística foi determinada considerando um nível de 5% ( $p < 0.05$ ), e todas as análises foram realizadas de acordo com as premissas dos testes aplicados.

### 3.5 Comprovação da patogenicidade de isolados de *Diaporthe* spp.

Utilizou a cultivar Domínio IPRO, suscetível ao apodrecimento de vagens e grãos verdes, e com a ocorrência de estrias na haste. As sementes foram obtidas de plantas cultivadas em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa. As sementes foram semeadas em vasos com areia e após quatro dias foram selecionadas as plântulas consideradas normais (vigorosas, com crescimento proporcional de raízes e parte aérea) e transplantadas em vasos de 4L contendo substrato composto de solo e areia (3:1). Durante a condução do ensaio foi realizada a manutenção diária de umidade do substrato conforme a capacidade de campo, com água não autoclavada.

#### 3.5.1 Inoculação por infiltração de vagens

Foi preparada uma suspensão de conídios na concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL, com isolados de *D. longicolla* (SJ86 e SJ158) e de  $1 \times 10^5$  conídios/mL com isolados de *D. ueckerae* (SJ111 e SJ240). As suspensões de conídios foram preparadas com água destilada autoclavada e infiltrada em vagens no estágio fenológico R5.2. Com o auxílio de uma seringa (volume = 1 mL) e agulha estéril, a suspensão foi depositada na cavidade interna das vagens até o momento em que todo interior da vagem estivesse preenchido pelo líquido. Cada isolado foi inoculado no mínimo em cem vagens e a testemunha foi inoculada apenas com água destilada autoclavada. As plantas foram mantidas em casa de vegetação a uma temperatura de 27 °C. Foi realizado o monitoramento diário e, sete dias após a inoculação, foram avaliados os sintomas em vagens e grãos. Os resultados foram gerados a partir de análise descritiva e qualitativa registradas nas avaliações.

As vagens e os grãos dos tratamentos que apresentaram sintomas de podridão foram coletados e, no laboratório, foi realizado o isolamento indireto de vagens e grãos, desinfetadas superficialmente o tecido vegetal com a imersão nos seguintes produtos: álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio a 2% (2 minutos). três lavagens em água destilada autoclavada. Em seguida, cinco fragmentos de vagens e cinco grãos inteiros desinfetados foram colocados sobre papel filtro esterilizado para retirar o excesso de água e transferidos para placa de Petri com meio BDA + estreptomicina 50 mg/L. Com cinco dias após a incubação a 25 °C foi realizada a repicagem de ponta de hifa de um fragmento ou grão de cada tratamento (isolado/testemunha) para uma nova placa com meio de cultura BDA, obtendo um isolado puro. A identificação do isolado foi realizada

em meio BDA, utilizando as características culturais e morfológicas dos corpos de frutificação e conídios, comparando com o isolado inoculado inicialmente nas plantas saudáveis. Os isolados foram armazenados em microtubos com solução de glicerol 50% no ultrafreezer (- 80 °C).

### 3.5.2 Inoculação por atomização de esporos

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições. Cada repetição foi representada por um vaso contendo três plantas.

Foram avaliadas duas condições experimentais de pré-incubação:

1. Plantas pré-incubadas sob condições de alta saturação de umidade (92%) por três dias antes da inoculação.
2. Plantas não pré-incubadas, mantidas sob condições normais de umidade (ambiente).

A inoculação foi realizada no estágio fenológico R5.2 (enchimento de grãos), utilizando uma suspensão de conídios com concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL (*D. longicolla*: SJ86 e SJ158) e  $1 \times 10^5$  conídios/mL (*D. ueckerae*: SJ111 e SJ240). A suspensão foi preparada com água destilada e adição de 0,001% de Tween 20 para garantir melhor aderência dos conídios às plantas. A aplicação foi feita com o auxílio de um nebulizador (atomizador). Após a inoculação, as plantas foram incubadas sob alta saturação de umidade (92%) e temperaturas diurnas elevadas (até 32°C) por três dias.

Ao longo da condução do experimento, a umidade foi manipulada para simular condições naturais de variação ambiental registrada na região médio-norte do estado de Mato Grosso e Rondônia. O ciclo de umidade seguiu a rotina semanal de três dias sob alta saturação de umidade (92%) e quatro dias em umidade ambiente. O ensaio foi monitorado semanalmente, e após o surgimento de sintomas, foram avaliadas semanalmente a incidência de vagens com sintomas, bem como a presença de cancro e seca de hastes e pecíolos.

Após quinze dias do surgimento dos primeiros sintomas em hastes e vagens, foram coletadas amostras sintomáticas dos tratamentos e amostras da testemunha e levadas ao laboratório para realizar o isolamento direto e indireto. As hastes com a presença de sinais (estruturas fúngicas) foram selecionadas para o isolamento direto e hastes sem sinais foram submetidas ao isolamento indireto. As vagens dos tratamentos que apresentaram sintomas de podridão foram abertas para a seleção dos grãos apodrecidos

para o isolamento indireto. Os grãos das vagens coletadas da testemunha também foram separados para o isolamento indireto.

Para o isolamento direto de fungo presente em hastes foi utilizada uma agulha esterilizada para realizar a transferência da estrutura fúngica da haste para o meio de cultura BDA com estreptomicina (50 mg/L). No isolamento indireto de hastes e grãos, foi realizada a desinfestação superficial em hipoclorito de sódio a 2%, por 2 minutos. Em seguida fragmentos de haste e grãos inteiros desinfetados foram lavados em água destilada autoclavada, depois colocados sobre papel filtro esterilizado para retirar o excesso de água e transferidos cinco fragmentos de haste ou cinco grãos inteiros para cada placa de Petri com meio BDA + estreptomicina 50 mg/L. Após cinco dias de incubação a 25 °C foi realizada a repicagem de ponta de hifa em uma nova placa com meio de cultura BDA, para a obtenção de um isolado puro e a posterior identificação do isolado foi realizada em meio BDA, utilizando as características morfológicas dos corpos de frutificação e conídios. Os isolados foram armazenados em microtubos com solução de glicerol 50% no ultrafreezer (- 80 °C).

No estágio de maturação fisiológica (R8) foram coletadas as plantas de cada repetição separadamente, colocadas em sacos de papel com a identificação do material, data de plantio, identificação do isolado pulverizado ou testemunha e a data de coleta. Os resultados foram apresentados utilizando análise descritiva e qualitativa das avaliações realizadas.

### **3.6 Infecção latente em haste e vagens**

#### **3.6.1 Haste**

Em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa foi conduzido o ensaio com a cultivar Domínio IPRO seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com oito repetições. Cada repetição (vaso) continha 3 três plantas.

As plantas no estágio V2 foram inoculadas com suspensão de conídios na concentração  $1 \times 10^6$  conídios/mL (*D. longicolla*: SJ86 e SJ158) e  $1 \times 10^5$  conídios/mL (*D. ueckerae*: SJ111 e SJ240). A testemunha foi inoculada apenas com água destilada. A suspensão foi preparada com água destilada e adição de 0,001% de Tween 20 para garantir melhor aderência dos conídios às plantas. A aplicação foi feita com o auxílio de um nebulizador (atomizador). Após a inoculação, as plantas foram incubadas sob alta saturação de umidade (92%) e temperaturas diurnas elevadas (até 32°C) por três dias.

Entre quatro e sete dias após a inoculação, as plantas foram mantidas sob condições de umidade ambiente e, no oitavo dia, foram coletadas as hastes de cada parcela separadamente e levadas ao laboratório para as análises posteriores.

As condições de umidade e temperatura foram manipuladas, como citado acima, para simular condições naturais de variação ambiental registrada na região médio-norte do estado de Mato Grosso e Rondônia.

No laboratório foi realizada a desinfestação superficial das hastes com álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio a 2% (2 minutos) e três lavagens em água destilada autoclavada. Em seguida, as hastes desinfestadas foram colocadas sobre papel filtro esterilizado para retirar o excesso de água e transferidas para os tratamentos com e sem Reglone.

Foi utilizado o herbicida Reglone (nome comercial), cujo ingrediente ativo é o diquat, para acelerar o processo de senescência dos tecidos vegetais. Esse produto é utilizado a campo para a dessecação de plantas de soja. Ao aplicar diquat, ocorre a inibição da fotossíntese, levando ao acúmulo de radicais livres e estresse oxidativo, o que resulta em danos celulares e morte tecidual (MARTINS, 2013). Esse estresse induzido pode afetar a fisiologia das plantas, tornando-as mais suscetíveis a infecções fúngicas. Como observado por Sinclair (1991) em seu trabalho, o uso do herbicida paraquat nos isolamentos de plantas de soja em laboratório favoreceu o desenvolvimento de fungos latentes sobre os tecidos.

Tratamento com Reglone: 12 hastes foram imersas em solução de Reglone (diquat 2% v/v) por 45 segundos e em seguida transferidas para caixa acrílica contendo três lâminas de papel filtro umedecidos com água destilada, com uma tela de polietileno sobre o papel filtro para impedir o contato das amostras com o papel. No tratamento sem Reglone, 12 hastes após a desinfestação superficial foram transferidas diretamente para a caixa de acrílico contendo as mesmas condições do tratamento com Reglone. As placas acrílicas foram incubadas a 25 °C sob fotoperíodo de 12 horas sob luz super branca e 12 horas de escuro.

Foi monitorado o surgimento de estruturas fúngicas e sintomas, sendo pulverizado álcool 70% sobre micélio de fungos contaminantes, para eliminar ou retardar o crescimento. No décimo quarto dia após a incubação foi avaliada a presença de sintomas e sinais (estruturas fúngicas) desenvolvidas sobre as hastes. Foi utilizada a estatística descritiva para apresentar os resultados.

### 3.6.2 Vagens

Em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa foi conduzido o ensaio com a cultivar Domínio IPRO seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições. Cada repetição (vaso) continha 3 três plantas.

As plantas no estágio V2 foram inoculadas com suspensão de conídios na concentração  $1 \times 10^6$  conídios/mL (*D. longicolla*: SJ86 e SJ158) e  $1 \times 10^5$  conídios/mL (*D. ueckerae*: SJ111 e SJ240). A testemunha foi inoculada apenas com água destilada. A suspensão foi preparada com água destilada e adição de 0,001% de Tween 20 para garantir melhor aderência dos conídios às plantas. A aplicação foi feita com o auxílio de um nebulizador (atomizador). Após a inoculação, as plantas foram incubadas sob alta saturação de umidade (92%) e temperaturas diurnas elevadas (até 32°C) por três dias. Entre quatro e sete dias após a inoculação, as plantas foram mantidas sob condições de umidade ambiente e, no oitavo dia, foram coletadas as hastes de cada parcela separadamente e levadas ao laboratório para as análises posteriores.

No laboratório foi realizada a desinfestação superficial das vagens com álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio a 2% (2 minutos) e três lavagens em água destilada autoclavada. Em seguida, as vagens desinfestadas foram colocadas sobre papel filtro esterilizado para retirar o excesso de água e transferidas para os tratamentos com e sem Reglone. Tratamento com Reglone: 10 vagens de cada parcela foram imersas em solução de Reglone (diquat 2% v/v) por 45 segundos e em seguida transferidas para caixa acrílica contendo três lâminas de papel filtro umedecidos com água destilada, com uma tela de polietileno sobre o papel filtro para impedir o contato das amostras com o papel. No tratamento sem Reglone, 10 hastes após a desinfestação superficial foram transferidas diretamente para a caixa de acrílico contendo as mesmas condições do tratamento com Reglone. As placas acrílicas foram incubadas a 25 °C sob fotoperíodo de 12 horas sob luz super branca e 12 horas de escuro.

Foi monitorado o surgimento de estruturas fúngicas e sintomas, sendo pulverizado álcool 70% sobre micélio de fungos contaminantes, para eliminar ou retardar o crescimento. No décimo quarto dia após a incubação foi avaliada a presença de sintomas e sinais (estruturas fúngicas) desenvolvidas sobre as vagens. Utilizou-se a estatística descritiva para análise e apresentação dos resultados.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Isolamentos

Durante as safras 2022/23 e 2023/24, foram obtidos e preservados na coleção de cultura do Laboratório de Genética e Genômica da Interação Planta-Patógeno, da Universidade Federal de Viçosa (MG), 180 isolados pertencentes ao gênero *Diaporthe*. Na safra 2022/23, foram obtidos 32 isolados de *Diaporthe spp.* a partir de hastes de soja com sintomas de quebramento e cancro, oriundos de lavouras do município de Sorriso (MT); 4 isolados de grãos com sintomas de apodrecimento (Sorriso-MT, Lucas do Rio Verde-MT); e outros 17 isolados cedidos por instituições de pesquisa parceiras.



**Figura 1.** Sintomas observados em plantas de soja com quebramento de haste, lesões de haste e estrias nas hastes, safra 2023/24 em Sinop (MT). (a) Lavoura com plantas no estágio R6 com quebramento de haste. (b) Plantas com quebramento de haste no estágio R8. (c, d) Haste quebrada com o desenvolvimento de lesões 20 dias após o quebramento. (d) Haste de planta com quebramento, apresentando lesões em hastes durante a senescência do tecido. (f) Estrias necróticas em hastes.

Na safra 2023/24 foram obtidos 127 isolados de *Diaporthe* spp., 92 isolados de hastes de soja com sintomas de quebramento e lesões de haste (Figura 1), e 33 isolados de grãos com sintomas de apodrecimento durante a fase de enchimento de grãos (Figura 2). Foram ainda incluídos 2 isolados de *D. ueckerae* recuperados de lesões foliares de milho (Z8 e Z12) (Tabela 1).



**Figura 2.** Vagens e grãos com sintomas de apodrecimento entre os estádios R5.1 e R5.5, na safra 2023/24 em Sorriso (MT). (a, d, e) vagens com sintomas iniciais de apodrecimento de grãos durante a fase de enchimento de grãos. (b, c, f) vagem e grãos com sintomas de apodrecimento em R5.5.

Todos isolados obtidos foram plaqueados em meio ágar-água + funcho para a observação de características morfológicas e conidiais, sendo 83 isolados selecionados para a identificação a nível de espécie a partir de sequências de nucleotídeos de quatro regiões do genoma: o espaçador interno transcrito (ITS) do DNA, as regiões gênicas do fator de alongamento 1-alfa (TEF1) e da calmodulina (CAL). A partir de análise filogenética multilocus, tendo a caracterização fenotípica como suporte, foram determinadas as espécies dos isolados.

Os isolados obtidos foram identificados como pertencentes às seguintes espécies: *D. longicolla* (4 isolados de grãos e 8 de hastes); *D. ueckerae* (41 isolados de haste, 5 de grãos e 2 de folhas de milho); *D. infecunda* (3 isolados de haste); e dois isolados (DH75 e DH76) que possivelmente pertencem a uma nova espécie de *Diaporthe*. Os isolados identificados como *D. aspalathi*, *D. caulivora* e *D. mayteni* foram cedidos por instituições de pesquisas parceiras (Tabela 1).

Nos isolamentos de haste com sintomas de quebramento e cancro houve uma predominância da espécie *D. ueckerae* (65,1%), seguido de *D. longicolla* (12,7%). Enquanto em grãos com sintomas de apodrecimento a frequência das espécies *D. longicolla* e *D. ueckerae* foram similares. Lembrando que o número de isolados obtidos de grãos neste estudo foi relativamente baixo, sendo necessária uma amostragem maior para estudos mais conclusivos sobre a frequência das diferentes espécies em grãos.

Neste estudo, a predominância de isolados de *Diaporthe* spp. provenientes de hastes deve-se ao fato de que a maioria das amostras coletadas e processadas no laboratório era composta por esse tipo de tecido vegetal, o que resultou em uma maior frequência de isolados originados das hastes

**Tabela 1.** Informações dos isolados utilizados na caracterização molecular.

	<b>Código</b>	<b>Espécie</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>Localidade</b>	<b>Tecido</b>	<b>Safra</b>
1	DH05	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
2	DH08	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
3	DH22	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
4	DH23	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
5	DH30	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
6	DH34	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
7	DH38	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
8	DH39	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
9	DH40	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
10	DH74	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
11	DH75	<i>Diaporthe</i> sp.	<i>Glycine max</i>	Viçosa (MG)	Haste	2022/23
12	DH76	<i>Diaporthe</i> sp.	<i>Glycine max</i>	Viçosa (MG)	Haste	2022/23
13	DH77	<i>D. infecunda</i>	<i>Glycine max</i>	Viçosa (MG)	Haste	2022/23
14	DH78	<i>D. pachirae</i>	<i>Glycine max</i>	Viçosa (MG)	Haste	2022/23
15	DH79	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	*	Haste	2022/23
16	DH80	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	*	Haste	2022/23
17	DH81	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	*	Haste	2022/23
18	DH121	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
19	DH125	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
20	DH126	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
21	DH131	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
22	DH137	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
23	DH139	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
24	DH144	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
25	DH145	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
26	DH150	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
27	DH159	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
28	DH162	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
29	DH164	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
30	DH169	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
31	DH172	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
32	DH179	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2022/23
33	DH187	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Grão	2022/23
34	DH190	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Grão	2022/23
35	DH191	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Grão	2022/23
36	DH194	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Lucas do Rio Verde (MT)	Grão	2022/23
37	AS1	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
38	AS2	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
39	AS3	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
40	AS4	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
41	AS5	<i>D. mayteni</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23

42	AS6	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
43	AS7	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
44	AS8	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
45	AS9	<i>D. infecunda</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
46	AS10	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
47	AS11	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
48	AS12	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
49	AS13	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
50	AS15	<i>D. aspalathi</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
51	C1	<i>D. aspalathi</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
52	C2	<i>D. caulivora</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
53	C3	<i>D. caulivora</i>	<i>Glycine max</i>	*	*	2022/23
54	SJ44	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Sinop (MT)	Grão	2023/24
55	SJ47	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sinop (MT)	Grão	2023/24
56	SJ71	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Sinop (MT)	Grão	2023/24
57	SJ86	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Coxilha (RS)	Haste	2023/24
58	SJ108	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Soledade (RS)	Haste	2023/24
59	SJ110	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Soledade (RS)	Haste	2023/24
60	SJ111	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Soledade (RS)	Haste	2023/24
61	SJ113	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Soledade (RS)	Haste	2023/24
62	SJ115	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Soledade (RS)	Haste	2023/24
63	SJ137	<i>D. aspalathi</i>	<i>Glycine max</i>	*	Haste	2023/24
64	SJ158	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Londrina (PR)	Grão	2023/24
65	SJ175	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Londrina (PR)	Grão	2023/24
66	SJ179	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Londrina (PR)	Haste	2023/24
67	SJ208	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Grão	2023/24
68	SJ212	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Soledade (RS)	Haste	2023/24
69	SJ222	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Campo Mourão (PR)	Haste	2023/24
70	SJ224	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Campo Mourão (PR)	Haste	2023/24
71	SJ225	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sta. Izabel do Oeste (PR)	Haste	2023/24
72	SJ232	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Sorriso (MT)	Haste	2023/24
73	SJ237	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Rondonópolis (MT)	Haste	2023/24
74	SJ239	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Planaltina (DF)	Haste	2023/24
75	SJ240	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Planaltina (DF)	Haste	2023/24
76	SJ243	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Jutí (MS)	Haste	2023/24
77	SJ244	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	Jutí (MS)	Haste	2023/24
78	SJ252	<i>D. longicolla</i>	<i>Glycine max</i>	São Nicolau (RS)	Haste	2023/24
79	SJ257	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Miranorte (TO)	Haste	2023/24
80	SJ258	<i>D. ueckerae</i>	<i>Glycine max</i>	Miranorte (TO)	Haste	2023/24
81	DPT2	<i>D. infecunda</i>	<i>Glycine max</i>	Viçosa (MG)	Haste	2022/23
82	Z8	<i>D. ueckerae</i>	<i>Zea mays</i>	Sorriso (MT)	Folha	2023/24
83	Z12	<i>D. ueckerae</i>	<i>Zea mays</i>	Sorriso (MT)	Folha	2023/24

(\*) – esse símbolo foi colocado em isolados cedidos por instituições de pesquisas, sem algumas informações.

## 4.2 Caracterização morfológica

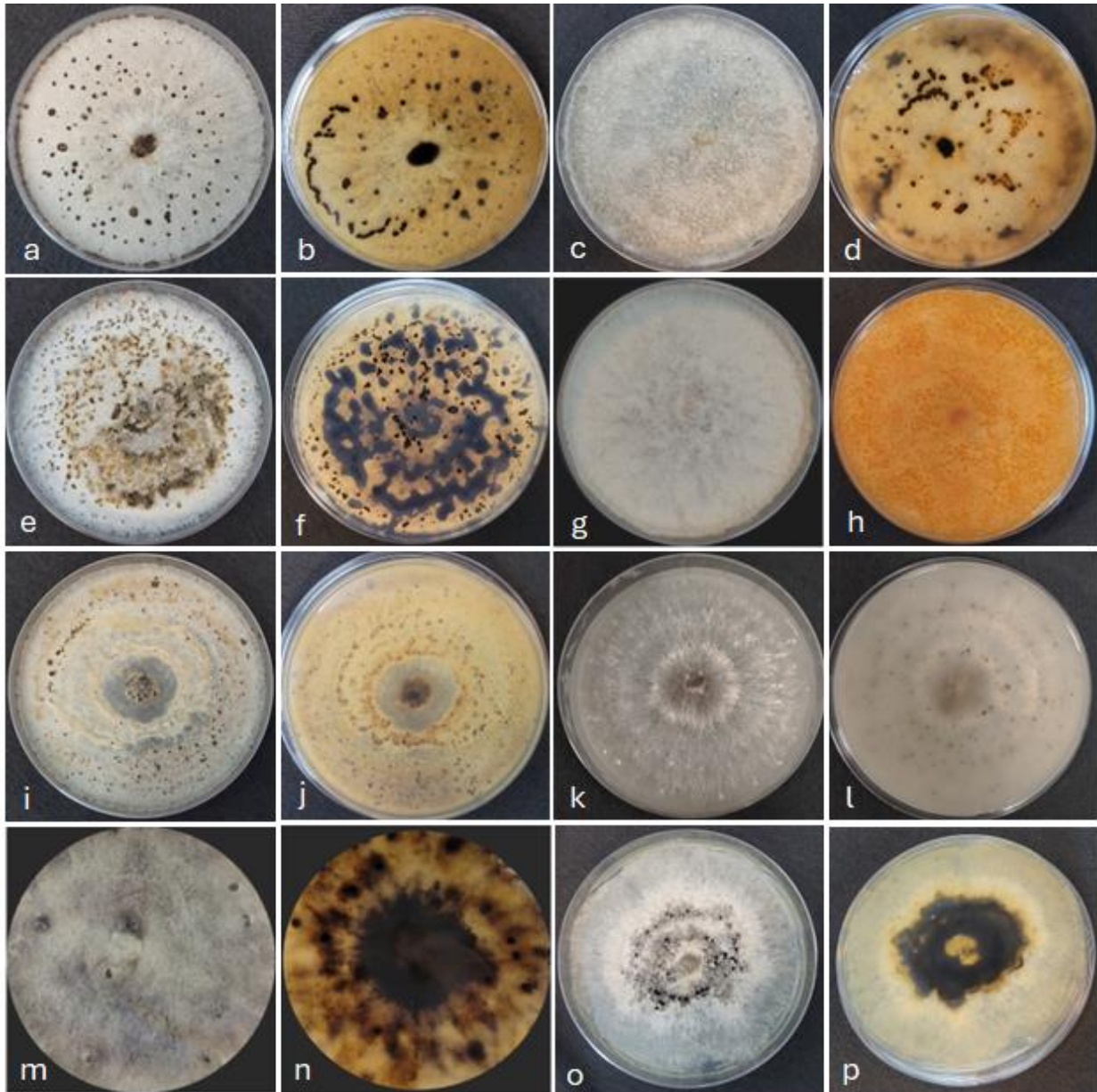
A maioria dos isolados de *Diaporthe* spp. não produziu picnídios/peritécio em meio BDA e Ágar-Água. Para alguns isolados, observou-se a produção de picnídios em meio BDA, após 18 dias de incubação a 25 °C sob escuro contínuo. Entretanto, a quantidade de picnídios por placa de Petri tamanho médio (90 mm x 90 mm x 15 mm) foi inferior a dez.

Os isolados das espécies *D. longicolla* e *D. ueckerae* apresentaram um crescimento micelial rápido, ocupando uma placa de Petri de tamanho médio em um intervalo de 4 a 7 dias. As colônias de isolados de *D. longicolla* e *D. ueckerae* apresentaram coloração e aspecto semelhantes nos primeiros dias após a repicagem, com o crescimento de micélio aéreo branco, flocoso e denso. Após alguns dias, **ocorreu** um escurecimento da colônia, com variação na coloração do micélio, **com** algumas partes da colônia adquirindo pigmentação marrom-claro, marrom-acinzentado, amarelo ou bege (Figura 3).

Os isolados de *D. longicolla* apresentaram crescimento abundante de estroma preto em meio BDA, ocupando quase toda a placa após 25 dias de incubação. Observou-se para os isolados dessa espécie picnídios em hastes de funcho em meio ágar-água. Esses picnídios eram globosos, embutidos no tecido, distribuídos isoladamente ou em grupos, erumpentes na maturidade. Vários picnídios apresentaram pescoço preto ramificado e alongado produzidos sobre o substrato, geralmente com um cirro conidial amarelado saindo do ostíolo como gotas translúcidas amareladas. Os conidióforos produzidos nos picnídios eram hialinos, lisos, não ramificados, cilíndricos a subcilíndricos e retos. Observou-se células conidiogênicas fialídicas, cilíndricas, terminais, afinando ligeiramente em direção ao ápice. Paráfises ausentes. Alfa conídios abundantes em hastes de funcho sob fotoperíodo de 12 horas de luz negra (315 nm) a 25 °C, asseptados, hialinos, lisos, elipsoidais, frequentemente bigutulados, base subtruncada, tamanho médio (comprimento x largura) variando entre 5,8 µm x 2,0 µm (isolado SJ222) a 6 µm x 2,9 µm (isolado SJ158). Ausência de beta conídios (Figura 4).

Os isolados de *D. ueckerae* produziram pequenos estroma arredondados preto em meio BDA, em proporção muito menor comparada a espécie *D. longicolla*. Os picnídios produzidos em hastes de funcho em meio ágar-água eram globosos, ostiolados, ocorrendo como aglomerados, embutidos em tecido, erumpentes na maturidade, com um pescoço preto alongado; poucos apresentaram cirro conidial amarelado saindo do ostíolo. Observou-se a produção abundante de estruturas imaturas,

globosas, aglomeradas, embutidas em tecido, com coloração marrom-escuro e preto. Os conidióforos eram hialinos, lisos, não ramificados, ampuliformes, longos e delgados. Células conidiogênicas fialídicas, cilíndricas, terminais, afinando ligeiramente em direção ao ápice. Paráfises ausentes. Todos os isolados produziram apenas alfa conídios, com exceção do isolado SJ258 que produziu apenas beta conídios.

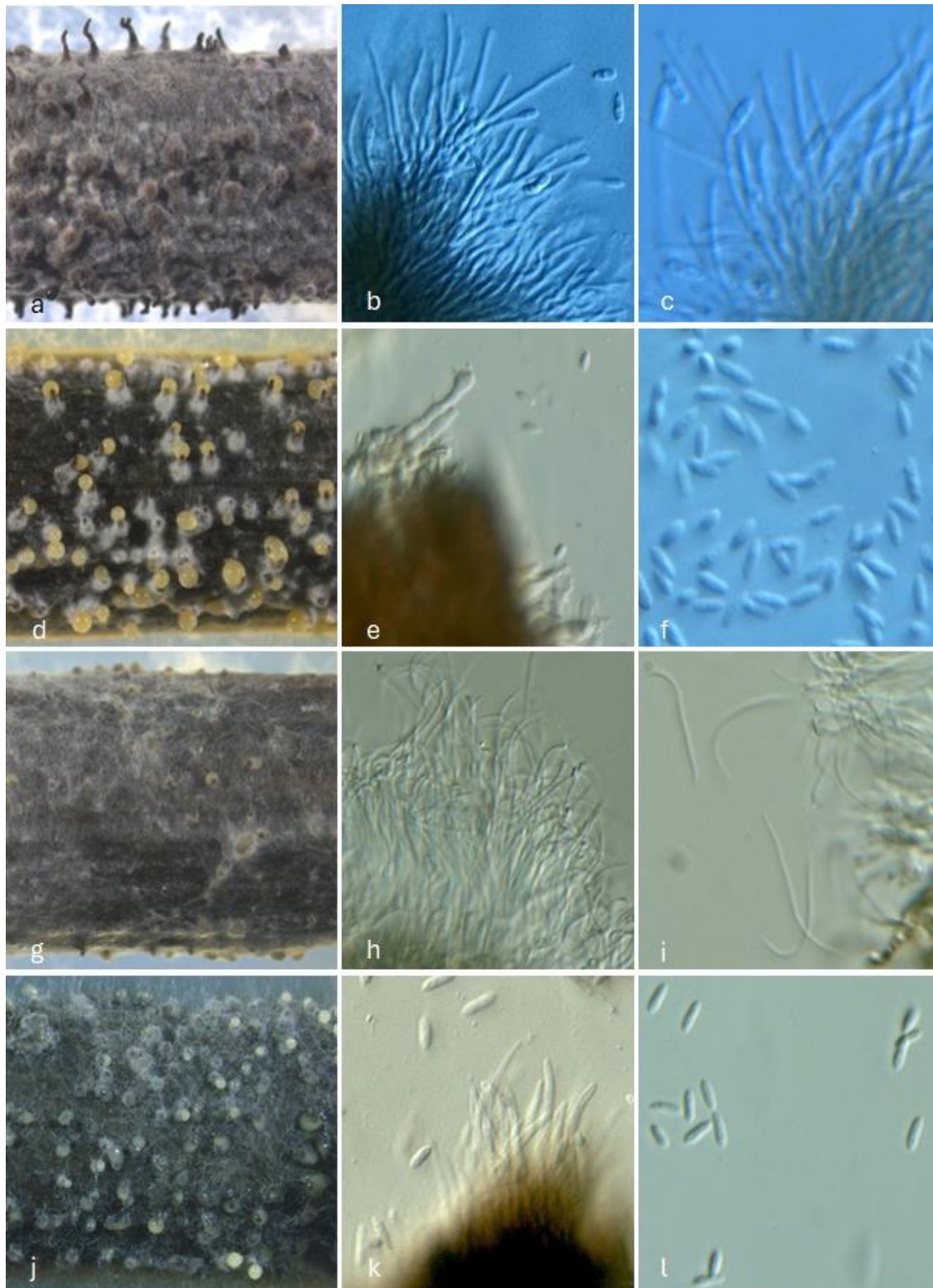


**Figura 3.** Características morfológicas de *Diaporthe* em meio BDA com 25 dias de idade. (a, b) *D. ueckerae*, isolado SJ257. (c, d) *D. ueckerae*, isolado SJ111. (e, f) *D. longicolla*, isolado SJ86. (g, h) *D. aspalathi*, isolado SJ137. (i, j) *D. caulivora*, isolado C2. (k, l) *D. mayteni*, isolado AS5. (m, n) *D. infecunda*, isolado (DPT2). (o, p) Isolado DH75 (possível nova espécie).

Constatou-se alfa conídios abundantes em hastes de funcho sob fotoperíodo de 12 horas de luz negra (315 nm) a 25 °C. Esses conídios eram asseptados, hialinos, lisos, elipsoidais, frequentemente bigutulados, base subtruncada, tamanho médio (comprimento x largura) variando entre 5,7 µm x 1,6 µm (isolado SJ175) e 6,3 µm x 2,3 µm (isolado SJ111). Conídios beta (apenas no isolado SJ258) abundantes em hastes de funcho sob fotoperíodo de 12 horas de luz negra (315 nm) a 25 °C, asseptados, hialinos, lisos, fusiformes ou em forma de gancho, base subtruncada, tamanho médio (comprimento x largura) de 20,6 µm x 0,9 µm (Figura 4).

Os isolados de *D. infecunda* apresentaram crescimento micelial lento, ocupando a placa (90 mm x 90 mm x 15 mm) após 15 dias de incubação no escuro a 25 °C. Depois de alguns dias a colônia com micélio branco e denso, adquiriu uma pigmentação acinzentada com o verso da colônia de cor marrom-claro a marrom-escuro. Houve a produção de estromas preto arredondados. Os picnídios produzidos em hastes de funcho em meio ágar-água eram globosos, com superfície rugosa e agregada, ocorrendo como aglomerados, embutidos em tecido, sem pescoço. Os conidióforos eram hialinos, lisos, não ramificados, ampuliformes, longos e delgado; as células conidiogênicas fialídicas, cilíndricas, terminais, afinando ligeiramente em direção ao ápice. Paráfises ausentes. Dois isolados produziram apenas alfa conídios (DH77 e DH78) e o isolado DPT2 produziu apenas beta conídios. Conídios alfa foram abundantes em hastes de funcho sob fotoperíodo de 12 horas de luz negra (315 nm) a 25 °C, asseptados, hialinos, lisos, elipsoidais, frequentemente bigutulados, base subtruncada, tamanho médio (comprimento x largura) de 6,1 µm x 1,8 µm (isolado DH78). Conídios beta (isolado DPT2) ocorreram com abundância em hastes de funcho sob fotoperíodo de 12 horas de luz negra (315 nm) a 25 °C, sendo asseptados, hialinos, lisos, fusiformes ou em forma de gancho, com base subtruncada e tamanho médio (comprimento x largura) de 26,8 µm x 1,1 µm (Figura 4).

Os isolados DH75 e DH76 (possível nova espécie de *Diaporthe*) apresentaram crescimento micelial lento, ocupando a placa (90 mm x 90 mm x 15 mm) após 12 dias de incubação no escuro a 25 °C. Depois de alguns dias a colônia com micélio denso e branco, adquiriu coloração bege, com produção de estroma preto-esverdeado no centro da colônia. Picnídios foram produzidos em hastes de funcho em meio ágar-água, sendo globosos, distribuídos isoladamente, embutidos em tecido, com pescoço preto.



**Figura 4.** Caracterização de estruturas reprodutivas de *Diaporthe* produzidas em hastas de funcho em meio água-ágar (a, b, c) *D. ueckerae*, isolado SJ111. (a) Picnídios. (b, c) Células conidiogênicas e alfa conídios. (d, e, f) *D. longicolla*, isolado SJ86. (d) Picnídios. (e) Células conidiogênicas. (f) Alfa conídios. (g, h, i) *D. infecunda*, isolado DPT2. (g) Picnídios. (h) Células conidiogênicas e beta conídios. (i) Beta conídios. (j, k, l) DH77, possível nova espécie de *Diaporthe*. (j) Picnídios. (k) Células conidiogênicas e alfa conídios. (l) Alfa conídios.

Nos isolados DH75 e DH76 (possível nova espécie de *Diaporthe*) observou-se conidióforos hialinos, lisos, não ramificados, ampuliformes, longos e delgados, e células conidiogênicas fialídicas, cilíndricas, terminais, afinando ligeiramente em direção ao ápice e paráfises ausentes.

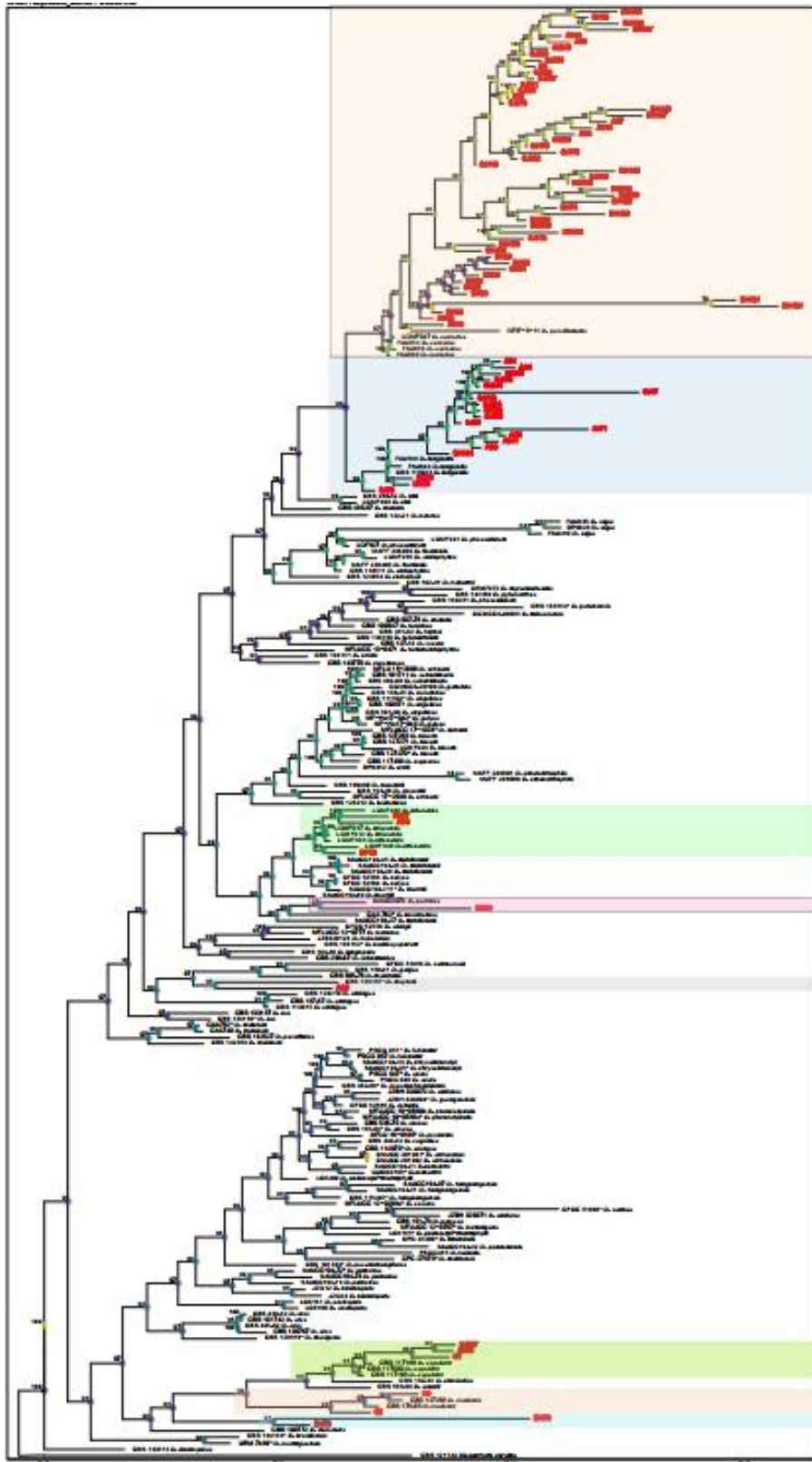
Foram formados conídios alfa em hastes de funcho sob fotoperíodo de 12 horas de luz negra (315 nm) a 25 °C, sendo esses asseptados, hialinos, lisos, elipsoidais, frequentemente bigutulados, base subtruncada, tamanho médio (comprimento x largura) de 6,7 µm x 2,2 µm (isolado DH75). Houve ausência de beta conídios (Figura 4).

De um modo geral, em meio BDA, houve uma grande variação nas características morfológicas dos isolados, inclusive da mesma espécie. Em meio ágar-água + funcho foi possível observar melhor as diferenças entre as espécies de *Diaporthe*, com base nas características dos conidiomas (Figura 4). Não foi possível descrever as características morfológicas dos isolados das espécies *D. aspalathi*, *D. caulivora*, *D. pachirae* e *D. mayteni*, pelo fato dos isolados dessas espécies não terem produzido conidiomas nos meios testados.

Com exceção dos isolados SJ258 (*D. ueckerae*) e DPT2 (*D. infecunda*), todos os demais isolados produziram apenas alfa conídios em meio ágar-água + hastes funcho. Os isolados SJ258 e DPT2 produziram somente beta conídios em hastes de funcho.

### 4.3 Análise filogenética

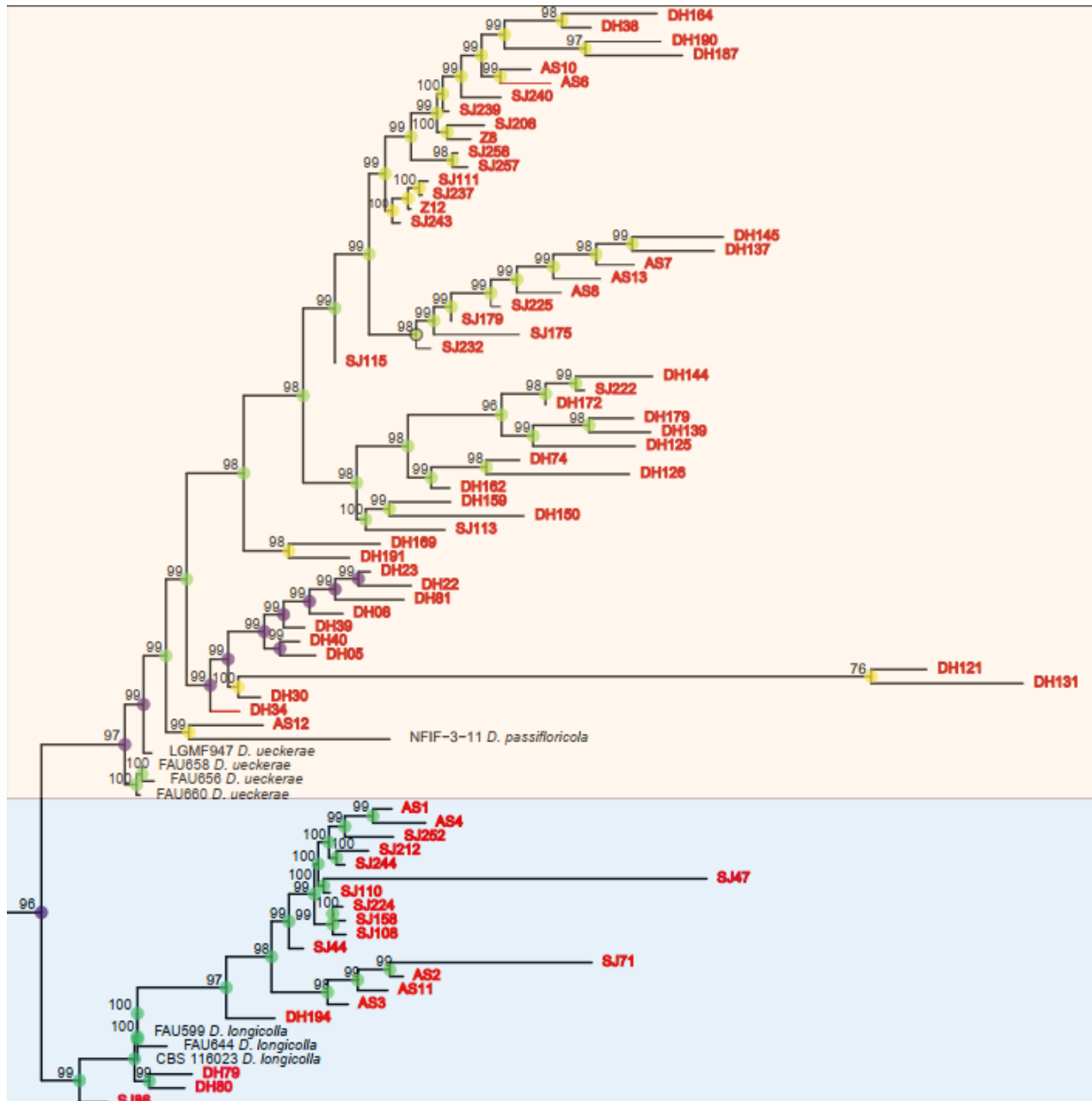
A análise filogenética revelou dois grandes clados, conforme descrito a seguir: Clado 2: Inclui *D. ueckerae* (DH05, DH08, DH22, DH23, DH30, DH34, DH38, DH39, DH40, DH74, DH81, DH121, DH125, DH126, DH131, DH137, DH139, DH144, DH145, DH150, DH159, DH162, DH164, DH169, DH172, DH179, DH187, DH190, DH191, AS6, AS7, AS8, AS10, AS12, AS13, SJ47, SJ108, SJ111, SJ113, SJ115, SJ175, SJ179, SJ208, SJ222, SJ225, SJ232, SJ237, SJ239, SJ240, SJ243, SJ257, SJ258, Z8 e Z12); *D. longicolla* (DH79, DH80, DH194, AS1, AS2, AS3, AS4, AS11, SJ44, SJ71, SJ86, SJ110, SJ158, SJ212, SJ224, SJ244 e SJ252); *D. infecunda* (DH77, AS9 e DPT2); *D. pachirae* (DH78) e *D. mayteni* (AS5). Clado 1: *D. aspalathi* (SJ137, AS15 e C1); *D. caulivora* (C2 e C3) e os isolados DH75 e DH76 foram agrupados em um clado com nenhuma espécie conhecida, com 91% de suporte bootstrap para Máxima Verossimilhança (ML), indicando tratar-se de isolados de uma nova espécie (Figura 5).



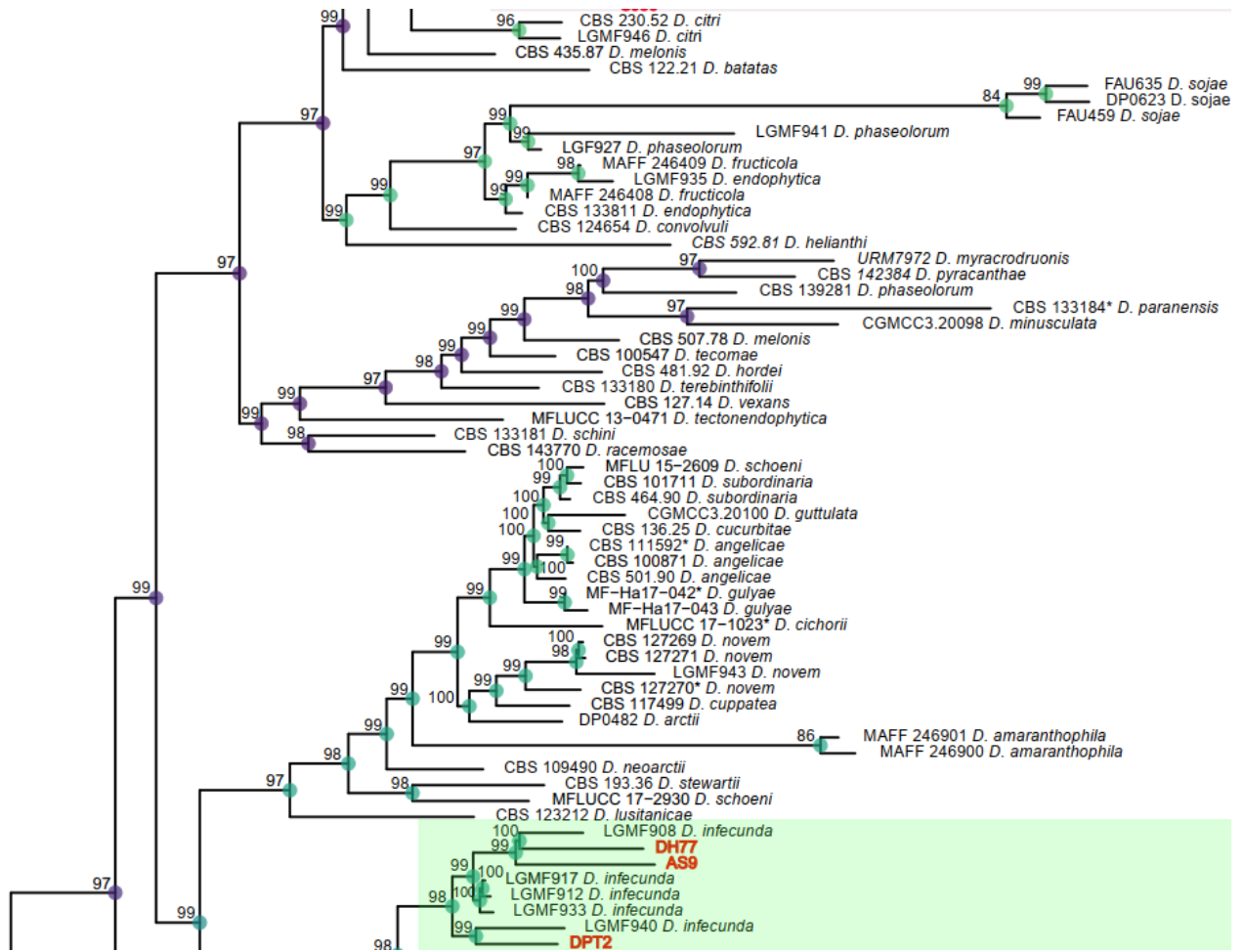
**Figura 5.** Árvore filogenética multilocus baseada em Máxima Verossimilhança utilizando o alinhamento de seqüências combinadas (ITS + TEF1 e CAL) dos isolados de espécies de *Diaporthe*. Nós bem suportados apresentam os valores de bootstrap (>80%) para Máxima Verossimilhança (ML). A árvore foi enraizada com *Diaporthella corylina* CBS 121124. As espécies deste estudo estão destacadas em vermelho.

Todos os isolados deste estudo se agruparam em clado com valor superior a 90% de bootstrap por análise de ML. O clado de *D. ueckerae* obteve alto suporte nas análises de ML com 97% de bootstrap. O clado de sequências de *D. longicolla* obteve alto suporte nas análises de ML com 99% de bootstrap.

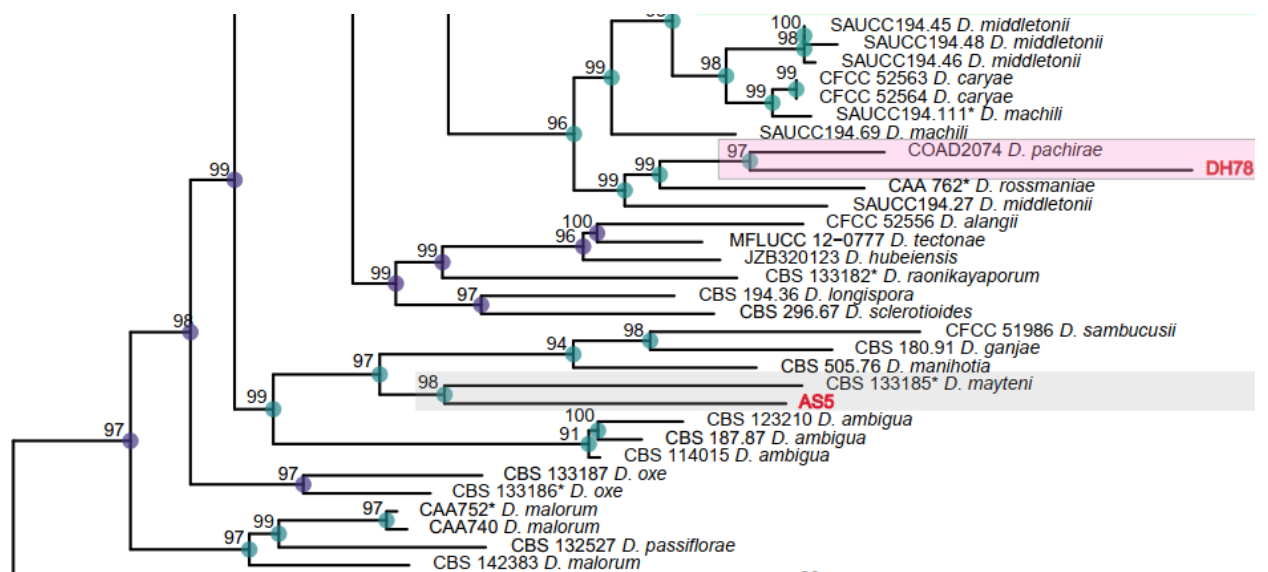
Grade clado 2:



Continuação ...

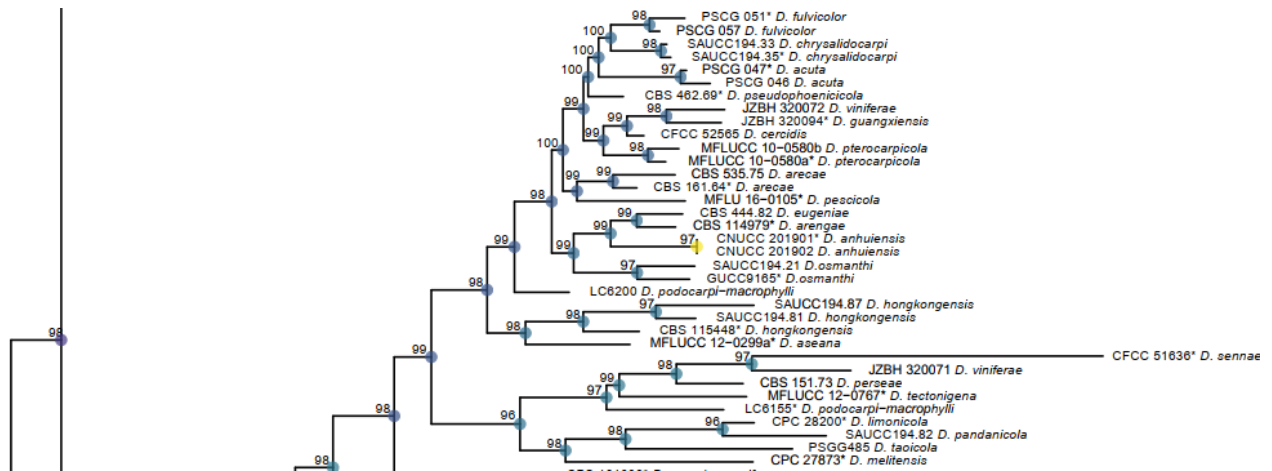


Continuação...

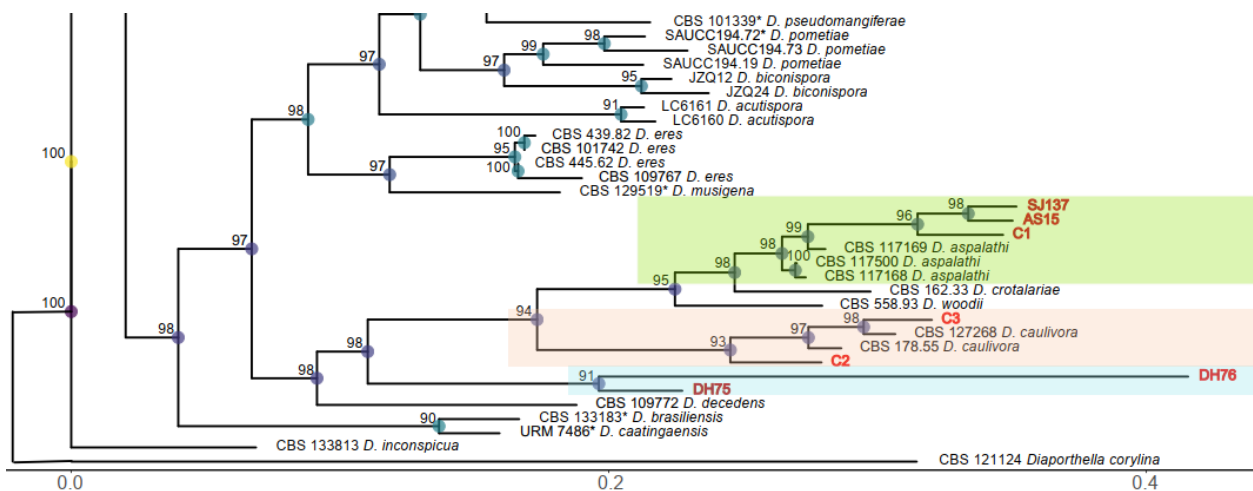


Continuação...

Grande clado 1:



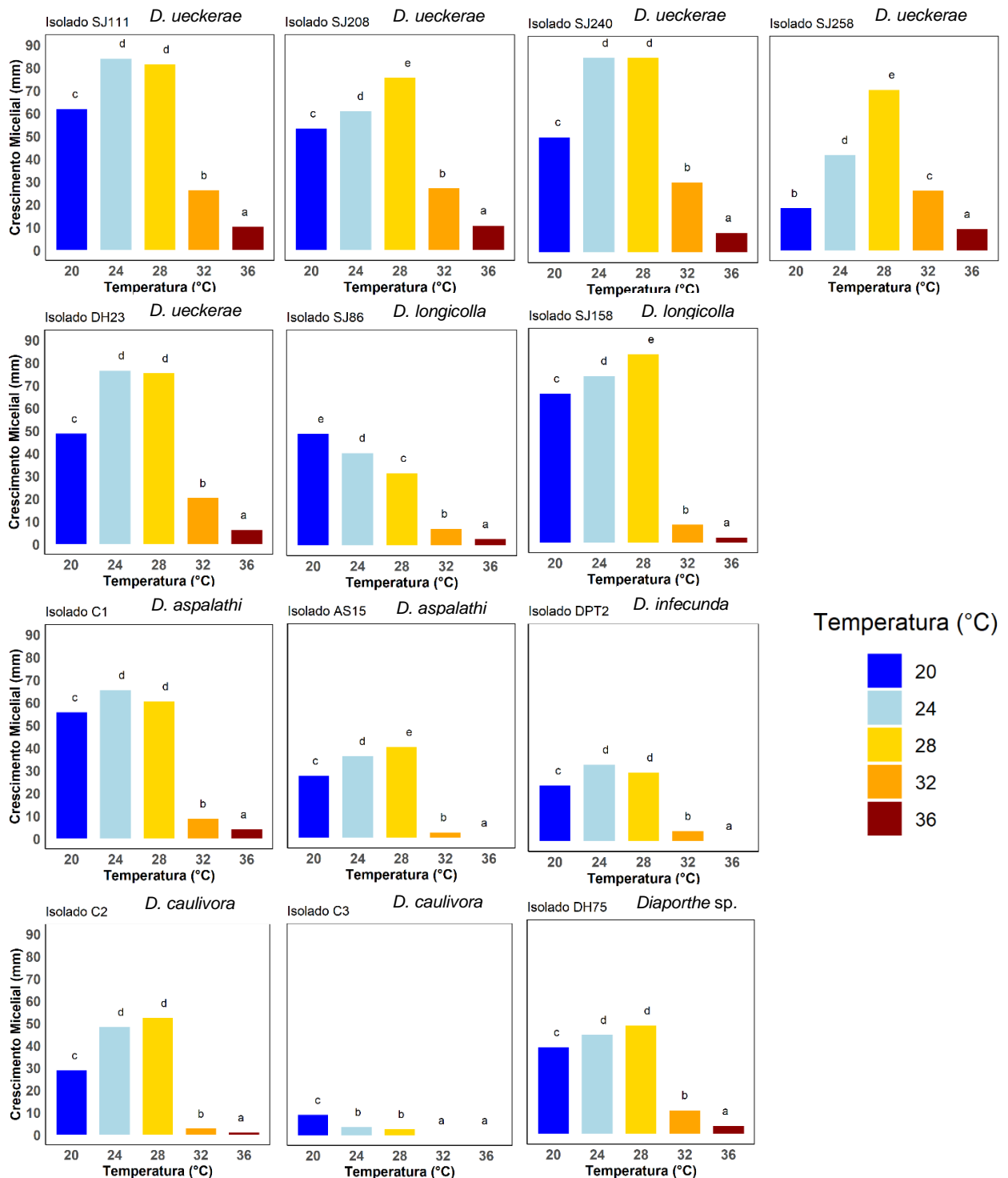
Continuação....



A árvore também foi disponibilizada em arquivo PDF no google drive, link ([https://drive.google.com/file/d/1bMdTRvSDV4dRIY2-W81N2RRjwDE5AqmB/view?usp=drive\\_link](https://drive.google.com/file/d/1bMdTRvSDV4dRIY2-W81N2RRjwDE5AqmB/view?usp=drive_link)), para uma melhor visualização.

#### 4.4 Crescimento micelial x temperatura

Houve efeito significativo da temperatura no crescimento micelial de isolados de *Diaporthe* spp. (p-valor < 0,001) (Figura 6).



**Figura 6.** Crescimento micelial de diferentes espécies de *Diaporthe* em função da temperatura. Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si, teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

De um modo geral, isolados de todas as espécies avaliadas neste ensaio apresentaram o crescimento praticamente inibido ou inibido na temperatura de 36 °C (Figura 6).

Os isolados de *D. ueckerae* (DH23, SJ111 e SJ240) apresentaram comportamento semelhante, com a maior taxa de crescimento micelial nas temperaturas de 24 °C e 28 °C. A segunda melhor temperatura de crescimento micelial foi de 20 °C, seguido das temperaturas de 32 °C e 36 °C, que tiveram redução significativa do crescimento e diferiram estatisticamente entre si. O isolado de *D. ueckerae* (SJ258) teve um comportamento diferente em relação aos outros isolados de *D. ueckerae*, com uma maior taxa de crescimento micelial na temperatura de 28 °C, diferindo significativamente da segunda melhor temperatura (24 °C) que teve uma redução do crescimento micelial de aproximadamente 40%. Seguindo em ordem decrescente, o crescimento micelial nas temperaturas de 32 °C, 20 °C e 36 °C, diferiu estatisticamente entre si e das demais temperaturas. O isolado SJ208 também teve o maior crescimento micelial na temperatura de 28 °C, que diferiu significativamente do crescimento nas demais temperaturas. As médias de crescimento nas temperaturas testadas, da maior para menor, foram as temperaturas: 28°C, 24 °C, 20 °C, 32 °C e 36 °C, diferindo estatisticamente entre si.

Os isolados de *D. longicolla* (SJ86 e SJ158) apresentaram comportamento distinto no crescimento micelial. O isolado SJ158 teve a maior média de crescimento micelial na temperatura de 28 °C, seguindo em ordem decrescente de médias, as temperaturas de 24 °C, 20 °C, 32 °C e 36 °C, que diferiram estatisticamente entre si. Enquanto o isolado SJ86 (*D. longicolla*) teve o crescimento micelial reduzido com o aumento da temperatura, com ordem decrescente de média de crescimento micelial, estão as temperaturas de 20 °C, 24 °C, 28 °C, 32 °C e 36 °C, diferindo significativamente entre si.

Os isolados de *D. aspalathi* (obtidos de coleção de cultura de empresas parceiras) tiveram crescimento micelial semelhante. O isolado C1 teve a maior média de crescimento micelial nas temperaturas de 28 °C e 24 °C, não diferindo entre si e apenas em relação às demais temperaturas. Com menores médias de crescimento micelial em ordem decrescente, nas temperaturas de 20 °C, 32 °C e 36 °C, diferindo estatisticamente entre si. O isolado AS15 apresentou maior desenvolvimento micelial na temperatura de 28 °C e em ordem decrescente de médias de crescimento micelial, estão as temperaturas de 24 °C, 20 °C, 32 °C e 36 °C, diferindo significativamente entre si.

Os isolados de *D. caulivora* (obtidos de coleção de cultura de empresas parceiras) C2 e C3, apresentaram comportamento diferente de crescimento micelial em função da temperatura. O isolado C2 teve maiores médias de crescimento micelial nas temperaturas de 28 °C e 24 °C, que não diferiram estatisticamente entre si. A ordem

decrecente de médias de crescimento micelial foram nas temperaturas de 20 °C, 32 °C e 36 °C, com diferenças significativas entre si. O isolado C3 teve um crescimento muito lento em relação a todos os isolados. As maiores médias de crescimento micelial foram observadas em temperaturas mais baixas, sendo a maior na temperatura de 20 °C, que diferiu significativamente das demais. Em ordem decrescente de médias de crescimento micelial, estão as temperaturas de 24 °C e 28 °C, que não diferiram significativamente entre si apenas em relação às demais temperaturas, seguida das temperaturas de 32 °C e 36 °C que não diferiram entre si e apresentando inibição de crescimento micelial.

Os isolados DH75 (*Diaporthe* sp.) e DPT2 (*D. infecunda*) se comportaram de maneira similar. Com maior crescimento micelial nas temperaturas de 24 °C e 28 °C, que não diferiram significativamente entre si, apenas em relação às demais temperaturas. Em ordem decrescente de médias de crescimento micelial, estão as temperaturas de 20 °C, 32 °C e 36 °C, que diferiram estatisticamente entre si.

De um modo geral, com exceção dos isolados C3 (*D. caulivora*) e SJ86 (*D. longicolla*), todos os demais isolados tiveram as maiores médias de crescimento micelial na temperatura de 28 °C.

## **4.5 Avaliação da patogenicidade**

### **4.5.1 Inoculação por infiltração de vagens**

Em plantas inoculadas com água (testemunha) não houve o desenvolvimento de sintomas de apodrecimento de grãos e vagens verdes. Todos os isolados de *D. ueckerae* (SJ111, SJ179, SJ223 e SJ240) e *D. longicolla* (SJ86, SJ108, SJ110 e SJ158) inoculados pelo método de infiltração causaram podridão de vagens e grãos verdes entre os estádios R5.2 e R5.5. Os primeiros sintomas foram observados a partir do terceiro dia após a inoculação. Inicialmente, as vagens apresentaram aspecto de encharcamento, que evoluiu para uma clorose próxima à região do hilo. Entre cinco e sete dias a maioria das vagens apresentaram uma coloração marrom-claro opaca e aos quatorze dias após a inoculação as vagens possuíam escurecimento intenso de cor marrom-escuro (Figura 7).

Na parte interna da vagem observou-se necrose da placenta da vagem e do tegumento dos grãos. A maioria dos grãos apresentaram uma necrose na região mais externa ao grão, muitas das vezes limitadas apenas ao tegumento. Em grãos com sintomas mais superficiais dificilmente encontrava-se crescimento micelial. Nos grãos

com sintomas de podridão mais interno observou-se crescimento micelial abundante sobre o grão.



**Figura 7.** Avaliação da patogenicidade de isolados de *Diaporthe* spp. em vagens no estágio R5.2 pelo método de infiltração em vagens com suspensão de conídios. (a, b, c, d) *D. ueckerae*, isolado SJ240. (a) Planta inoculada com sintomas de apodrecimento de vagens após 15 dias da inoculação. (b) Sintomas externos em vagens inoculadas. (c) Sintomas de podridão de grãos das vagens inoculadas, (d) reisolamento de *D. ueckerae* a partir de vagens sintomáticas. (e, f, g, h) *D. longicolla*, isolado SJ158. (e) Planta inoculada com sintomas de apodrecimento de vagens após 15 dias da inoculação. (f) Sintomas externos em vagens inoculadas. (g) Sintomas de podridão de grãos das vagens inoculadas. (h) reisolamento de *D. longicolla* de vagens com sintomas. (i, j, k, l) Testemunha inoculada com água. (i) Planta sem sintomas após 15 dias da inoculação. (j) Vagens sem sintomas externos. (k) Grãos saudáveis. (l) Grãos saudáveis sem crescimento fúngico em meio BDA.

Em grãos colhidos no final do ciclo (R8) de tratamentos com inoculação de *D. longicolla* e *D. ueckerae*, observou-se o crescimento micelial de *Diaporthe* spp. sobre o grão; esses grãos apresentavam coloração acinzentada a marrom-escuro ou marrom-avermelhado, muitos enrugados e/ou malformados (choco).

Confirmou-se a partir do isolamento indireto de vagens e grãos sintomáticos que o apodrecimento de vagens e grãos entre os estádios R5.2 e R5.5 se tratava dos respectivos fungos inicialmente inoculados, *D. longicolla* e *D. ueckerae*, que

apresentaram as mesmas características morfológicas em meio BDA e ágar-água + funcho, que os isolados inicialmente inoculados (Figura 7).

#### **4.5.2 Inoculação por atomização de suspensão de conídios**

As plantas inoculadas com água (testemunha) não apresentaram sintomas de podridões de vagens e grãos, e cancro da haste. Plantas inoculadas com *D. longicolla* (SJ86 e SJ158) apresentaram sintomas de necrose e abortamento de pecíolos na condição de pré-incubação (umidade 92%), a partir de cinco dias após a inoculação. Foi observado na condição de pré-incubação em plantas inoculadas com *D. longicolla* uma alta incidência de vagens abortadas na fase de canivete (R3). Plantas de uma parcela inoculada com SJ86 e SJ158 (*D. longicolla*) foram descartadas após dez dias de inoculadas, devido ao crescimento abundante de micélio do isolado inoculado sobre as hastes e elevada produção de picnídios, resultando na necrose e seca ascendente das hastes. Como consequência da seca das hastes, ocorreu a seca de pecíolos e interrupção do enchimento de grãos com a seca de vagens. As parcelas foram descartadas para evitar a contaminação de parcelas vizinhas.

Nas plantas não pré-incubadas, o abortamento de vagens no estágio de canivete (R3) foi menor. Com vinte e cinco dias após a inoculação com isolados de *D. longicolla* (SJ86 e SJ158) observou-se os primeiros sintomas em vagens nos estádios R6, caracterizado por uma clorose que iniciou na região do hilo com uma coloração marrom-claro ou marrom-claro alaranjada. Após alguns dias os sintomas evoluíram sobre todo o tecido da vagem ou quase todo, apresentando uma coloração marrom-escura ou marrom-claro com aspecto opaco. Algumas vagens apresentaram sintomas com lesões necróticas em forma de estrias. Todas as plantas apresentam incidência de vagens com sintomas de apodrecimento superior 80% no estágio R6 (Figura 8).

Em plantas inoculadas com *D. ueckerae* (SJ111 e SJ240) foram observados sintomas de apodrecimento de grãos apenas em R6, em uma incidência menor que 5% para o isolado SJ111 nas condições: com pré-incubação e sem pré-incubação. As plantas pulverizadas com suspensão de conídios do isolado SJ240 apresentaram incidência de vagens com sintomas de apodrecimento em R6 menor que 5% (sem pré-incubação) e de 14% (com pré-incubação) (Figura 8).



**Figura 8.** Teste de patogenicidade com *Diaporthe* spp. por meio da inoculação com suspensão de conídios. (a, b, c) *D. ueckerae*, isolado SJ240. (a) Planta inoculada com sintomas de apodrecimento de vagens no estágio de maturação. (b) Sintomas externos em vagens inoculadas. (c) Aparência de grãos em R8. (d, e, f) *D. longicolla*, isolado SJ158. (d) Planta inoculada com sintomas de apodrecimento de vagens no estágio de maturação. (e) Sintomas externos em vagens inoculadas. (f) Aparência de grãos em R8. (g, h, i) Plantas inoculada com água (testemunha) sem sintomas. (g) Planta sem sintomas. (h) Vagens sem sintomas externos. (i) Aparência de grãos em R8. (j) Haste e (k) Pecíolo com sintoma de cancro em planta inoculada com *D. ueckerae*, isolado SJ240. (l) Haste com produção de picnídios durante a senescência de planta inoculada com *D. longicolla*, isolado SJ158. (m) Planta de parcela descartada devido a produção abundante de picnídios em toda a planta, com seca prematura de hastes, pecíolos e vagens após 10 dias da inoculação. (n) Folha com produção de picnídios e cirros.

Os sintomas observados em vagens de plantas inoculadas com *D. ueckerae* foram semelhantes aos observados em plantas inoculadas com *D. longicolla*, com o desenvolvimento mais lento dos sintomas em vagens comparada a plantas inoculadas com *D. longicolla*. Ambas as espécies tiveram produção abundante de picnídios sobre lesões necróticas de folhas de plantas inoculadas com o fungo (Figura 8).

No estágio R8 (maturação) as plantas inoculadas com *D. longicolla* apresentaram produção abundante de picnídios sobre todos os tecidos senescentes da planta. Enquanto plantas inoculadas com *D. ueckerae* tiveram produção de picnídios praticamente ausente em vagens e alta produção de picnídios em hastes.

Os grãos colhidos de vagens na fase de maturação (R8) dos tratamentos com inoculação de *D. longicolla* e *D. ueckerae* apresentaram características semelhantes aos grãos inoculados pelo método de infiltração. Os grãos com crescimento micelial sobre o grão apresentaram coloração acinzentada a marrom-escuro ou marrom-avermelhado, muitos enrugados e/ou malformados (choco). Mais de 80% dos grãos colhidos de plantas inoculadas com *D. longicolla* estavam com sintomas de podridão. Enquanto a incidência de grãos apodrecidos nos tratamentos com inoculação *D. ueckerae* foi entre 15 e 40%. Nas plantas inoculadas apenas com água (testemunha) não houve incidência de grãos com apodrecimento.

Foram observadas lesões em hastes e pecíolos apenas em uma planta de nove inoculada com *D. ueckerae* (SJ240). As lesões eram alongadas de coloração preta a marrom-avermelhada. Em plantas inoculadas com *D. longicolla* foi observada a seca de hastes e pecíolos na fase de maturação (R7), com produção abundante de picnídios sobre o tecido morto. Foi descartada no décimo dia após a inoculação a parcela com plantas inoculadas com *D. longicolla* (SJ86 e SJ158) previamente incubadas sob condições de alta umidade (92% umidade) e temperatura diurna de até 32 °C, devido a seca e morte prematura das plantas com produção abundante de picnídios por toda a planta.

O agente causal da podridão de vagens e grãos, cancro e seca da haste neste ensaio foi confirmada a partir do isolamento indireto de vagens, grãos e hastes sintomáticas. Os fungos recuperados apresentaram as mesmas características morfológicas em meio BDA e ágar-água + funcho, que os isolados de *D. longicolla* e *D. ueckerae*, inicialmente inoculados.

#### 4.6 Infecção latente

O tratamento com Reglone (2% v/v) afetou o desenvolvimento de infecções latentes em vagens e hastes incubadas em câmara úmida (Figura 9 e 8).

Na avaliação de quatorze dias após a inoculação, não foram observadas diferenças no desenvolvimento de sintomas ou produção de picnídios sobre vagens inoculadas com *D. longicolla* e *D. ueckerae*, em função das condições de pré-incubação e ausência de pré-incubação (Figura 9).

Apenas 18% das vagens inoculadas com *D. longicolla* (SJ86) no tratamento com Reglone apresentaram a presença de sintomas de podridão de vagens e grãos, com a produção de picnídios sobre as vagens. As vagens de plantas inoculadas com os outros isolados: SJ158 (*D. longicolla*), SJ111 e SJ240 (*D. ueckerae*), e tratadas com Reglone não apresentaram sintomas de podridão de vagens e grãos, e produção de corpos de frutificação de *Diaporthe* spp.

Vagens de plantas inoculadas com *D. longicolla* (SJ86 e SJ158) e *D. ueckerae* (SJ111 e SJ240), sem tratamento com Reglone, desenvolveram sintomas de podridão de vagens e grãos, com produção de picnídios sobre as vagens, nas duas condições estudadas: com pré-incubação e sem pré-incubação. A porcentagem média de vagens sintomáticas inoculadas com *D. ueckerae* (SJ111 e SJ240) sem tratamento com Reglone foi entre 30% e 40% nas condições com pré-incubação e sem pré-incubação. Enquanto 60% a 78% das vagens inoculadas com *D. longicolla* sem tratamento com Reglone, apresentaram sintomas de podridão de vagens e grãos nas condições: com pré-incubação e sem pré-incubação.

Em vagens de plantas inoculadas apenas com água (testemunha), foi detectado o desenvolvimento micelial de *Diaporthe* spp. e *Fusarium* spp., com aproximadamente 30% das vagens apresentando grãos apodrecidos, tanto na condição com pré-incubação quanto sem pré-incubação.

O sintoma de podridão do grão foi similar ao observado na inoculação por infiltração e atomizada. A podridão era mais externa ao grão, causando necrose no tegumento e na placenta da vagem (Figura 9).

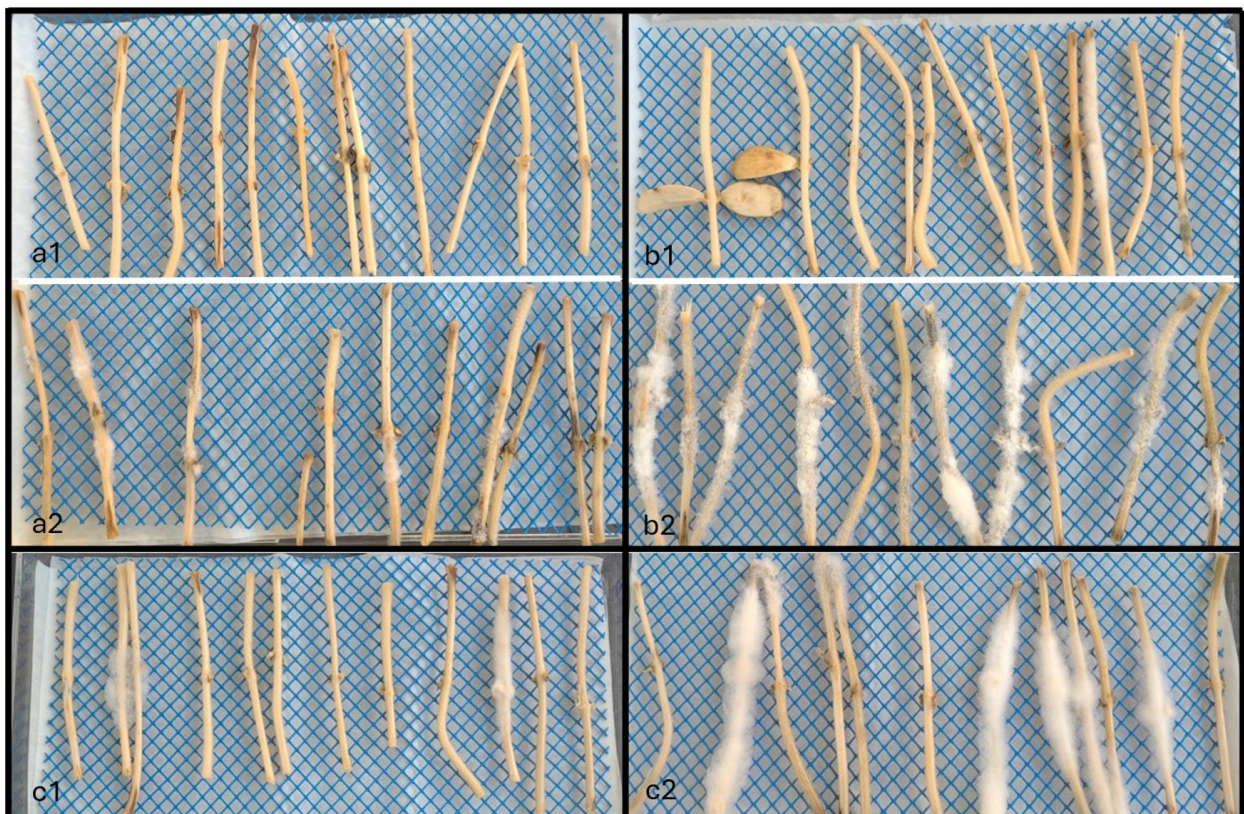
No ensaio de infecção latente em hastes foi observado efeito do Reglone (2% v/v) sobre o desenvolvimento do fungo, assim como em vagens.



**Figura 9.** Infecção latente em vagens inoculadas com suspensão de conídios de *Diaporthe* spp. durante o estágio R5.2. (a1, a2, b1, b2 e c) *D. ueckerae*, isolado SJ240. (a1) Vagens de plantas pré-incubadas e tratadas com Reglone (2% v/v). (a2) Vagens de plantas pré-incubadas sem tratamento Reglone. (b1) Vagens de plantas não pré-incubadas e tratadas com Reglone. (b2) Vagens de plantas não pré-incubadas e sem tratamento Reglone. (c) Aparência interna de vagens sem tratamento com Reglone. (d1, d2, e1, e2 e f) *D. longicolla*, isolado SJ158. (d1) Vagens de plantas pré-incubadas e tratadas com Reglone (2% v/v). (d2) Vagens de plantas pré-incubadas sem tratamento Reglone. (e1) Vagens de plantas não pré-incubadas e tratadas com Reglone. (e2) Vagens de plantas não pré-incubadas e sem tratamento Reglone. (f) Aparência interna de vagens sem tratamento com Reglone. (g1, g2, h1, h2 e i) Testemunha. (g1) Vagens de plantas pré-incubadas e tratadas com Reglone (2% v/v). (g2) Vagens de plantas pré-incubadas sem tratamento Reglone. (h1) Vagens de plantas não pré-incubadas e tratadas com Reglone. (h2) Vagens de plantas não pré-incubadas e sem tratamento com Reglone. (i) Aparência interna de vagens sem tratamento Reglone.

A maioria das hastes não tratadas com Reglone apresentou crescimento micelial de *Diaporthe* spp. sobre as hastes, enquanto, nas hastes tratadas com Reglone, a maioria não apresentou crescimento micelial (Figura 10).

Em hastes inoculadas com *D. longicolla* (SJ86 e SJ158) e *D. ueckerae* (SJ111 e SJ240) não tratadas com Reglone, apenas no tratamento com a inoculação do isolado SJ158 (*D. longicolla*) observou-se a produção abundante de picnídios sobre as hastes. Os demais isolados desenvolveram somente micélio sobre as hastes, inclusive de hastes de plantas das parcelas-testemunha.



**Figura 10.** Infecção latente em hastes inoculadas com suspensão de conídios de *Diaporthe* spp. durante o estágio V2. (a1 e a2) *D. ueckerae*, isolado SJ240. (a1) Hastes tratadas com Reglone (2% v/v). (a2) Hastes sem tratamento Reglone. (b1 e b2) *D. longicolla*, isolado SJ158. (b1) Hastes tratadas com Reglone (2% v/v). (b2) Hastes sem tratamento Reglone. (c1 e c2) Testemunha. (c1) Hastes tratadas com Reglone (2% v/v). (c2) Hastes sem tratamento Reglone.

## 5. DISCUSSÃO

*Diaporthe ueckerae* foi a espécie predominante nos isolamentos efetuados a partir de hastes de soja, com 65% dos isolados identificados pertencentes a essa espécie e 12% a *D. longicolla*. A prevalência dessa espécie em hastes é corroborada pelos

resultados de Silva (2021), que relatou, pela primeira vez, a associação da espécie *D. ueckerae* com podridão de grãos e lesões de haste de soja na região médio-norte do estado de Mato Grosso. Por meio da inoculação de isolados de *D. ueckerae* em plantas de diferentes cultivares de soja utilizando o método palito-de-dente, Silva (2021) também demonstrou a capacidade dessa espécie causar necrose na haste e, posteriormente, a seca e morte da haste e de toda a planta. LOPES *et al.* (2024) também constataram *D. ueckerae* causando podridão de grãos de soja no Brasil e lesões em haste. Os sintomas causados por *D. ueckerae* em grãos são semelhantes aos de *D. longicolla* descritos por Lehman (1923). Até o momento, não foi publicado qualquer estudo mostrando a frequência das espécies *D. ueckerae* e *D. longicolla* associadas a haste de soja com sintomas de quebramento, cancro ou assintomáticas.

Os isolados das espécies *D. infecunda* e *D. pachirae* em soja causaram seca de haste e vagens próximo ao final de ciclo da cultura (R6) o que acelerou a senescência das plantas inoculadas, em condições de casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. A intensa produção de picnídios de *D. infecunda* e *D. pachirae* sobre as plantas foi observada após um período de estresse térmico (48 horas), com temperatura diurna de até 40 °C. Até o momento *D. infecunda* havia sido relatada principalmente como endófito em plantas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*), feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) e saboeiro (*Sapindus saponaria*) no Brasil, especialmente na região da Mata Atlântica. *Diaporthe infecunda* foi encontrada também em astragalus (*Astragalus membranaceus*) na Coréia do Sul (FARR; ROSSMAN, 2025).

A espécie *D. pachirae* foi descrita por Milagres *et al.* (2018) causando manchas foliares em *Pachira glabra* no viveiro florestal na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG). Desde então, não há relatos em nenhum outro hospedeiro. Esses achados indicam que a ocorrência das espécies *D. infecunda* e *D. pachirae*, causando seca da haste em plantas de soja cultivadas em casa de vegetação no município Viçosa (MG), ocorreu a partir de inóculos desses fungos presentes no substrato, visto que essas espécies fúngicas ocorrem na região de Viçosa (MG).

A espécie *D. infecunda* foi descrita por Gomes *et al.* (2013) apenas pela identificação molecular a partir de análises filogenéticas multilocus. As culturas eram estéreis nos meios de cultura avaliados. Esse trabalho é o primeiro a descrever as características morfológicas dessas duas espécies que produziram conidiomas em

hastes de funcho sobre meio ágar-água, incubadas a 25 °C sob fotoperíodo de luz negra (315 nm) por 12 horas/dia.

Das amostras sintomáticas de plantas de soja obtidas nas safras 2022/23 e 2023/24, não foi recuperado nenhum isolado de *D. aspalathi* e *D. caulivora*. No Brasil tinham sido registradas até o momento nove espécies do gênero *Diaporthe* causando doenças em soja: *D. longicolla*, *D. caulivora*, *D. aspalathi*, *D. phaseolorum*, *D. sojae*, *D. ueckerae*, *D. citri*, *D. endophytica* e *D. infertilis* (FARR; ROSSMAN, 2025). Esse resultado demonstra que o cancro da haste causado por *D. aspalathi* e *D. caulivora* está sob controle nas regiões amostradas, pelo emprego de cultivares resistentes (HENNING *et al.*, 2014). Porém é importante o contínuo monitoramento dos campos de soja com ocorrência de lesões em haste visando também identificar o surgimento eventual de raças de *D. aspalathi* e *D. caulivora* capazes de suplantam a resistência presente em cultivares atuais.

As características morfológicas dos isolados de *D. ueckerae* e *D. longicolla* identificados nesse trabalho são semelhantes às descritas por Gomes *et al.* (2013). Diferindo apenas o isolado de *D. ueckerae* (SJ258) obtido de haste de soja no município de Miranorte (TO), com a produção de apenas beta conídios em meio ágar-água + funcho. Ainda não havia sido observada a formação de beta conídios na espécie *D. ueckerae*. Todavia, o tipo de conídio e as características da colônia em meio cultura não são parâmetros capazes de diferenciar espécies de *Diaporthe*. Isolados da mesma espécie apresentam alta variabilidade das características em meio de cultura (VECHIATO *et al.*, 2003; GOMES *et al.*, 2013). Nota-se também a existência de variabilidade genética tanto em *D. longicolla* quanto em *D. ueckerae* com base na variação da sequência dos genes utilizados na análise filogenética.

Também não se observou a reprodução dos sintomas em haste (cancros) por meio da inoculação das plantas com suspensão de esporos tanto de *D. longicolla* quanto de *D. ueckerae*, mesmo constatando-se a presença de infecção latente. Ou seja, é necessário a ocorrência de algum fator que predisponha à infecção por esses fungos, como, por exemplo, alta temperatura. Nesse particular é importante notar que *D. longicolla* não é um bom patógeno de haste. Sua presença em lesões de haste corrobora a presença de grande quantidade de inóculo nos sistemas de produção e a contribuição de algum fator ambiental predispondo as plantas à sua infecção.

Interessante notar que o crescimento e esporulação de espécies de *Diaporthe* não é influenciado apenas pelo substrato, como também pela temperatura. Neste trabalho, a

temperatura ótima para o crescimento micelial das espécies avaliadas (*D. aspalathi*, *D. caulivora*, *D. longicolla*, *D. ueckerae*, *D. infecunda*, *D. mayteni*) e o isolado DH75 (espécie a definir) foi 28 °C, com exceção dos isolados SJ86 (*D. longicolla*) e C3 (*D. caulivora*) que obtiveram a maior média de crescimento na temperatura de 20 °C. Não foi possível estabelecer uma relação entre a origem dos isolados com a temperatura ótima de crescimento. Esses resultados são similares aos obtidos por Floyd *et al.* (2022) para as espécies *D. longicolla* e *D. aspalathi*, com maior desenvolvimento em temperaturas mais elevadas e o isolado C3 (*D. caulivora*) em temperaturas menores. Portanto o comportamento dos isolados SJ86 (*D. longicolla*) e C2 (*D. caulivora*) difere dos observados por Floyd *et al.* (2022). Uma possível explicação para o isolado SJ86 seja a sua origem, obtido de lavoura de soja do município de Coxilha (RS), podendo esse ser adaptado às condições dessa região com temperatura amena (EMBRAPA, 2024).

A identificação de linhagens de *Diaporthe* a nível de espécie é complexa, exigindo a buscar na literatura por trabalhos atuais sobre classificação taxonômica, devido muitas espécies terem sido identificadas incorretamente. Como por exemplo *D. passifloricola*, *D. vochysiae* e *D. rosae* que em trabalho recente com análises filogenéticas mais consistentes, essas espécies foram sinonizadas como *D. ueckerae*. O mesmo foi observado neste estudo, em que *D. passifloricola* está inserido no mesmo clado que *D. ueckerae* (FERRO *et al.*, 2024).

*Diaporthe longicolla* tem sido a principal espécie do gênero *Diaporthe* associada a podridões de grãos nos estádios de maturação da soja. Outras espécies, *D. aspalathi*, *D. caulivora*, *D. kongii*, *D. sojæ*, *D. ueckerae*, *D. unshiuensis*, *D. bacilloides*, *D. flavescens* e *D. insulistroma* têm sido relatadas causando podridão de grãos próximo a colheita, em menor frequência (PETROVIC *et al.*, 2021). O potencial de inóculo de *D. longicolla* é a principal característica atribuída a sua importância na deterioração de grãos, como observado no presente estudo, todos os isolados de *D. longicolla* apresentaram capacidade de produção de picnídios maduros em hastes de funcho e em plantas de soja na fase de final de ciclo, muito superior aos isolados de *D. ueckerae*.

Os sintomas em vagens inoculadas com suspensão de conídios de *D. longicolla* e *D. ueckerae* pelo método de infiltração foram semelhantes aos sintomas de apodrecimento de grãos e vagens verdes em lavouras de soja da região médio-norte do estado de Mato Grosso e Rondônia. Externamente as vagens apresentam sintomas de encharcamento e/ou escurecimento, ao abrir o legume um ou mais grãos apresentaram sintomas de apodrecimento com crescimento de micélio branco ou bege (KUDLAWIEC

*et al.*, 2023). Esse método de inoculação é informativo em relação à determinação se o isolado é patogênico ou não, portanto não representa as condições naturais de campo. No momento da infiltração muita das vezes ocorre o deslocamento do grão, desligando-o da vagem e iniciando a sua senescência, favorecendo o processo de deterioração do grão por fungos.

As plantas inoculadas com *D. longicolla* e *D. ueckerae* pelo método com atomização de suspensão de conídios, em plantas pré-incubação por 3 dias sob alta saturação de umidade (92%) e temperaturas diurnas de até 32 °C, e plantas sem pré-incubação, não apresentaram sintomas de apodrecimento de vagens e grãos semelhantes aos relatados em lavouras de soja na região médio-norte de Mato Grosso e Rondônia. As plantas inoculadas em R5.2, com vagens em diferentes estádios, também apresentaram o surgimento dos primeiros sintomas a partir do estágio R6, quando as vagens estavam iniciando a maturação. Os grãos apodrecidos em vagens sintomáticas entre R7.2 e R8 inoculadas com *D. longicolla* e *D. ueckerae*, tinham as mesmas características já conhecidas em grãos apodrecidos por *D. longicolla*. Os grãos ficaram enrugados, quebradiços, apresentando rachaduras no tegumento, sem brilho e crescimento de micélio esbranquiçado a bege sobre o grão (LEHMAN, 1923; SINCLAIR, 1993). Assim, é improvável que essas espécies sejam as responsáveis pelos sintomas de apodrecimento observados em vagens verdes no meio-norte do MT e Rondônia.

Embora tenha sido recuperadas as espécies *D. ueckerae* e *D. longicolla* de hastes com quebramento e/ou com lesões, quando inoculados os isolados dessas espécies por atomização de suspensão de conídios, não causaram lesões de hastes antes da fase de maturação fisiológica das plantas. Apenas uma planta de nove inoculadas com *D. ueckerae* apresentou lesões na haste, com o desenvolvimento de lesões alongadas de coloração preta a marrom-avermelhada, semelhantes aos observados por Silva (2021) e Lopes *et al.* (2024), e ensaios avaliando a patogenicidade de *D. ueckerae* utilizando o método do palito é possível que a perfuração do caule pelo palito gere um estresse local que contribui para o desenvolvimento das lesões, não refletindo totalmente as condições de campo em situações não estressante ou predisponentes. Nas plantas inoculadas com *D. ueckerae* por atomização de esporos observou-se somente pequenas lesões necróticas (1-2 mm), de cor marrom-avermelhada, que não evoluíram para os sintomas de cancro observados a campo.

O ensaio de infecção latente em vagens e grãos suporta a hipótese de que as vagens são infectadas por fungos pertencentes ao gênero *Diaporthe* nos estádios iniciais

de desenvolvimento, permanecendo a infecção latente sem sintomas aparentes até a fase que antecede a maturação. Quando maduro o legume, o fungo se desenvolve sobre o grão causando seu apodrecimento, principalmente em condições ambientais favoráveis como a incidência de chuvas próxima a colheita. Neste trabalho inclusive em vagens e hastes das plantas testemunha apresentaram o desenvolvimento de fungos dos gêneros *Diaporthe* e *Fusarium*; possivelmente inóculos desses fungos estavam no substrato utilizado ou chegaram ou foram inoculadas com inóculo presente na própria casa de vegetação, estabelecendo infecção latente nos tecidos das plantas. Fatores abióticos e características das cultivares podem também contribuir para a predisposição de vagens e grãos ao processo de deterioração.

A exposição dos grãos a ciclos alternados de elevada e baixa umidades antes da colheita, comumente observados na região médio-norte de Mato Grosso e Rondônia, devido à ocorrência de chuvas frequentes ou às flutuações diárias de alta e baixa umidade relativa do ar, resulta no dano mecânico nos grãos, apresentando enrugamento e rachaduras no tegumento do grão devido à expansão e contração desse (FRANÇA-NETO; HENNING, 1984). Esse enrugamento do grão é normalmente mais intenso sob condições de déficit hídrico, afetando a qualidade do grão e podendo assim propiciar o desenvolvimento de fungos pertencentes ao gênero *Diaporthe* latente no tecido.

Krzyzanowski *et al.* (2022) observaram em sua pesquisa que grãos obtidos de vagens com paredes mais espessas, principalmente associada a alto teor de lignina, apresentaram menos danos (enrugamento e rachaduras no tegumento) em condições de alta umidade e altas temperaturas na maturidade. A lignina é um biopolímero complexo de natureza fenilpropanóide, amplamente reconhecido por sua função estrutural nas plantas, sendo determinante na manutenção da coesão e integridade das fibras vegetais (BUTLER; BAILEY, 1973; COWLING; KIRK, 1976). Nas sementes de soja, a lignina desempenha um papel crucial na resistência ao dano mecânico, o que representa um fator chave para a preservação da qualidade física e fisiológica das sementes (ALVAREZ *et al.*, 1997). A deposição de lignina no tecido tegumentar contribui significativamente para a resistência mecânica das células, atuando também como uma barreira física contra a penetração de microrganismos (RIJO; VASCONCELOS, 1983). Essa camada lignificada, devido às suas propriedades de impermeabilidade e semipermeabilidade seletiva, confere proteção adicional às sementes contra os danos causados por condições climáticas de altas temperaturas e alta umidade no final do ciclo da cultura. Apesar da importância da lignina no desenvolvimento do legume, diversas

pesquisas evidenciam que o tegumento das sementes de soja apresenta uma camada fina e baixo teor de lignina, limitando sua capacidade de proteção ao eixo embrionário. Esse eixo, localizado logo abaixo do tegumento, encontra-se em uma posição estruturalmente vulnerável, tornando-se suscetível a danos mecânicos e às condições adversas do ambiente externo (GUPTA *et al.*, 1973; AGRAWAL; MENON, 1974; FRANÇA-NETO; HENNING, 1984).

Estudos complementares sobre aspectos fisiológicos e bioquímicos de plantas cultivadas nas condições de umidade e temperatura registradas na região médio-norte do estado de Mato Grosso e Rondônia, precisam ser realizados para uma melhor compreensão do problema. As condições ambientais são determinantes para a ocorrência desse problema e os cultivares apresentam diferentes comportamentos.

Em relação ao quebramento de haste, neste estudo não foi possível estabelecer uma relação entre a ocorrência de *D. longicolla* e *D. ueckerae* em hastes com o quebramento de haste. Nos ensaios de infecção latente foi observado o desenvolvimento desses fungos sobre as hastes destacadas de plantas inoculadas com suspensão de conídios, quando submetidos a incubação em câmara úmida após oito dias da inoculação. Esse resultado demonstra a sobrevivência de inóculo desses fungos e a capacidade de se desenvolver no tecido em condições favoráveis como: alta umidade no período de senescência da haste.

Esse comportamento é semelhante aos relatados no campo em plantas com quebramento da haste. Nessas plantas é observado após algumas semanas o início da senescência do tecido na região quebrada, que progride por toda a planta, encontrando muitas vezes picnídios de *Diaporthe* spp. sobre o tecido morto (MEYER *et al.*, 2024). Mesmo em cultivares sem relatos de quebramento de haste, são encontrados frequentemente os fungos *D. ueckerae*, *D. longicolla*, *Colletotrichum* spp. e *Fusarium* spp.

Com os resultados desse estudo e observações de campo podemos inferir que as lesões encontradas em haste com quebramento e a recuperação de *D. ueckerae* e *D. longicolla* tanto de planta assintomática, quando de plantas com quebramento de haste e/ou lesões na haste é em decorrência do estabelecido de infecção latente em haste de soja por esses fungos. Como observado por Sinclair (1991), *Diaporthe* spp. tem a capacidade de colonizar hastes e vagens de plantas de soja sem causar sintomas aparentes, até o momento em que uma condição de estresse térmico e/ou processo de senescência do tecido ocorra, sendo observado o surgimento de sintomas e/ou sinais

(picnídios) no tecido da planta. O estresse térmico afeta negativamente a saúde das plantas, comprometendo as suas respostas imunológicas naturais e tornando-as mais suscetíveis ao ataque de patógenos. Isso também é observado no processo de senescência do tecido da planta, as defesas naturais diminuem, tornando os tecidos mais suscetíveis à infecção de fitopatógenos (ANESE; FRONZA, 2015; RIVERO *et al.*, 2022). Sobre essas condições de estresse térmico e/ou senescência do tecido vegetal, é observado o desenvolvimento de *Diaporthe* spp. latentes em hastes e vagens assintomáticas, com o surgimento de sintomas e/ou sinais (picnídios) nos tecidos da planta.

## 6. CONCLUSÃO

As espécies *D. longicolla* e *D. ueckerae* foram isoladas a partir de lesões em hastes de soja e vagens com sintomas de apodrecimento.

As espécies *D. infecunda* e *D. pachirae* foram recuperadas de hastes após exposição ao estresse térmico. As plantas apresentaram produção abundante de picnídios, com seca prematura de hastes, pecíolos e vagens.

A temperatura ótima de crescimento micelial das espécies *D. ueckerae*, *D. infecunda* e *D. aspalathi* foi de 28 °C. Os isolados das espécies *D. caulivora* e *D. longicolla* tiveram a temperatura ótima de crescimento micelial em 20 °C ou 28 °C.

As espécies *D. longicolla* e *D. ueckerae* não causam quebraimento de haste de soja.

As espécies *D. longicolla* e *D. ueckerae* são capazes de causar infecção latente em hastes e vagens.

As espécies *D. longicolla* e *D. ueckerae* são capazes de causar sintomas em hastes e vagens de soja com o início da maturidade fisiológica dos tecidos. Porém os sintomas observados a campo em haste não foram reproduzidos por meio da inoculação por atomização de esporos, indicando a necessidade de um fator predisponente, como, por exemplo, estresse térmico.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, P. K.; MENON, K. Lignin content and seed coat thickness in relation to seed coat cracking. **Seed Research**, v. 2, p. 64-66, 1974.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 3. ed. New York: Academic Press, 1988. 803p.

ALHO, C. J. R.; SILVA, J. S. The Pantanal: scientific and institutional challenges for conservation. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 2, p. 301-308, 2019.

ALMEIDA, D. R. *et al.* Climatic characteristics of the Cerrado biome: A review. **Journal of Biogeography**, v. 47, n. 5, p. 1-13, 2020.

ALVAREZ, P. J. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MANDARINO, J. M. G.; FRANÇA-NETO, J. de B. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 25, p. 209-214, 1997.

ANESE, R. de O.; FRONZA, D. **Fisiologia pós-colheita em fruticultura**. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS. 130 p. 2015.

BACKMAN, P. A.; WEAVER, D. B.; MORGAN-JONES, G. Soybean stem canker: An emerging disease problem. **Plant Disease**, v. 69, n. 8, p. 641-648, 1985.

BUTLER, G. W.; BAILEY, R. W. **Chemistry and biochemistry of herbage**. London: New York: Academic Press, v. 3. 416 p.1973.

CARBONE, I.; KOHN, L. M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **Mycologia**. p: 553–556, 1999.

CASTELLANI, A. **Long term maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water**. Pontificia Acad. Scientiarum, 1968. Disponível em: <https://www.pas.va/en/publications/commentarii/commentarii-ii-17.html>. Acesso em: 02 jul. 2024.

CENIS, J. L. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. **Nucleic acids research**, v. 20, n. 9, p. 2380, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1093%2Fnar%2F20.9.2380>.

CHITNIS, V. R. *et al.* Fungal endophyte-mediated crop improvement: the way ahead. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 561007, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.561007>.

CHOU, S. C. *et al.* Mudanças Climáticas no Cerrado. In: RODRIGUES, L. N. (ed.). **Agricultura irrigada no cerrado: subsídios para o desenvolvimento sustentável**. 2. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2024. Cap. 12, p. 362 - 397. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1165613/mudancas-climaticas-no-cerrado>. Acesso em: 30 jan. 2025.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Tabela de dados - Produção e balanço de oferta e demanda de grãos (safra 2023/24), jul. 2024**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras/graos/boletim-da-safra-degraos>. Acesso em: 10 jul. 2024.

CORTINA, J. V.; T.; G, F. de.; WALKER, D. R. Identificação de fungos em sementes de soja doentes colhidas durante período de alta pluviosidade em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Biociências**, v. 2, p. 386- 391, 2013.

COSTA, M. H. *et al.* The role of Amazonia in climate regulation. **Nature Climate Change**, v. 9, n. 4, p. 251-255, 2019.

COSTAMILAN, L. M. *et al.* First report of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* infecting soybean plants in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, p. 385-389, 2008.

COWLING, E. B.; KIRK, T. K. Properties of cellulose and lignocellulose materials as substrates for enzymatic conversion processes. **Biotechnology and Bioengineering Symposium**, v. 6, p. 95-123, 1976.

DALL'AGNOL, A. *et al.* **A Embrapa Soja no contexto do desenvolvimento da soja no Brasil: histórico e contribuições**. Embrapa, Brasília, DF. 2016.

EMBRAPA. **Comunicado sobre apodrecimento de vagens de soja na safra 2020/21**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/59153394/comunicado-sobre-apodrecimento-de-vagens-de-soja-na-safra-202021>. Acesso em: 16 jul. 2024.

EMBRAPA. **Monitoramento agrometeorológico de Pelotas/RS em tempo real: Boletim Climatológico Mensal**. Disponível em: [https://agromet.cpact.embrapa.br/online/Current\\_Monitor.htm](https://agromet.cpact.embrapa.br/online/Current_Monitor.htm). Acesso em: 12 fev. 2025.

EMBRAPA. **Estação Meteorológica da Embrapa Agrossilvipastoril: Dados mensais**. 2025. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agrossilvipastoril/estacao-meteorologica>. Acesso em: 01 fev. 2025.

FAO – Food and Agriculture Organization. **The state of food and agriculture**. Rome: FAO. 2021.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory**. Washington: USDA, 2016. Disponível em: <https://fungi.ars.usda.gov/>. Acesso em: 10 fev. 2025.

FERRO, L. O. *et al.* Endophytic *Diaporthe* species from Brazil. **Fungal Systematics and Evolution**, v. 14, n. 1, p. 251-270, 2024.

FLOYD, C. M.; MALVICK, D. K. *Diaporthe* species associated with symptomatic and asymptomatic infection of soybean stems in Minnesota: identity, virulence, and growth characteristics. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 44, n. 6, p. 858-873, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/07060661.2022.2077450>.

FRANÇA-NETO, J. B. de.; HENNING, A. A. **Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo (Circular Técnica, 9). 39 p. 1984.

GAO, Y.; LIU, F.; CAI, L. Unravelling *Diaporthe* species associated with *Camellia*. **Systematics and Biodiversity**, v. 14, n. 1, p. 102-117, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1080/14772000.2015.1101027>.

GOLDSMITH, P. D. Economics of soybean production, marketing, and utilization. In: **Soybeans**. AOCS Press, p. 117-150, 2008.

GOMES, R. R. *et al.* *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. **Persoonia- Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 31, p. 01-41, 2013. DOI: 10.3767/003158513X666844.

GOSSEN, B. D.; ANDERSON, K. L.; BUCHWALDT, L. Host specificity of *Colletotrichum truncatum* from lentil. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 31, n. 1, p. 65-73, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1080/07060660909507573>.

GUPTA, P. C.; MILLER, D. A.; HITTLE, C. N. Note on the effect of threshing on seed damage, seed vigor and germination in two soybean varieties. **Indian Journal of Agricultural Science**, v. 43, p. 617-618, 1973.

HARTMAN, G. L.; WEST, E. D.; HERMAN, T. K. Crops that feed the World 2. Soybean—worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. **Food Security**, v. 3, p. 5-17, 2011.

HENNING, A. A.; FRANÇA-NETO, J. B. Problemas na avaliação de germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. **Revista Brasileira de Sementes**, v.2, n.3, p.9-22, 1980.

HENNING, A. A. *et al.* **Manual de identificação de doenças de soja**. 5.ed. Londrina: Embrapa Soja, 76 p. 2014.

HOBBS, T. W.; SCHMITTHENNER, A. F.; KUTER, G. A. A new *Phomopsis* species from soybean. **Mycologia**, v. 77, n. 4, p. 535-544, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.1985.12025139>.

HONGSANAN, S. *et al.* Annotated notes on *Diaporthe* species. **Mycosphere**, v. 14, n. 1, p. 918-1189, 2023. DOI: 10.5943/mycosphere/14/1/12.

KEELING, B. L. Influence of temperature on growth and pathogenicity of geographic isolates of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. **Plant Disease**, Vol. 72, No. 3, p. 220-222. 1988.

KLINGELFUSS, L. H.; YORINORI, J. T. Infecção latente de *Colletotrichum truncatum* e *Cercospora kikuchii* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 158-164, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582001000200007>.

KONTZ, B.; ADHIKARI, S.; SUBRAMANIAN, S.; MATHEW, F. M. Optimization and application of a quantitative polymerase chain reaction assay to detect *Diaporthe* species in soybean plant tissue. **Plant disease**, v. 100, n. 8, p. 1669-1676, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-15-1204-RE>.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, F. A. **Importância do conteúdo de lignina da parede celular da vagem e do tegumento da semente de soja sobre o seu desempenho fisiológico e sanitário**. Circular Técnica: EMBRAPA, 2022.

KUDLAWIEC, K. *et al.* **Eficiência de fungicidas para o controle da podridão de grãos da soja, na safra 2022/23: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2023. 32 p. (Embrapa Soja, Circular Técnica 197). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1156013/eficiencia-de-fungicidas-para-o-controle-da-podridao-de-graos-da-soja-na-safra-20222023-resultados-sumarizados-dos-ensaios-cooperativos>. Acesso em: 14 jul. 2024.

KUDLAWIEC, K.; ASCARI, J. P.; MÜLLER, M. Management of early soybean diseases. **Cultivar**, 2023. Disponível em: [https://revistacultivar.com/articles/management-of-early-soybean-diseases?utm\\_source=chatgpt.com](https://revistacultivar.com/articles/management-of-early-soybean-diseases?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 18 fev. 2025.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v.33, p.1870-1874, 2016.

LEHMAN, S. G. Pod and stem blight of soybean. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. v. 10, n. 2, p. 111-179, 1923. DOI: <https://doi.org/10.2307/2394035>.

LEITE, T. S. de.; FASSONI, A. C.; PEREIRA, O. L.; MIZUBUTI, E. S. G.; ARAUJO, E. F.; QUEIROZ, M. V. de. Novel and highly diverse fungal endophytes in soybean revealed by the consortium of two different techniques. **Journal of Microbiology** (2013): p. 56-69. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12275-013-2356-x>.

LOPES, M. A. *et al.* **Primeiro relato de podridão de sementes de soja causada por *Diaporthe ueckeri* no Brasil**. Resumo. 34 ° Seminário de Iniciação Científica UDESC. 2024.

LULU, J. **Boletim Agrometeorológico: acompanhamento da 1ª safra 2023/24 em Mato Grosso**. Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop, MT. 2024. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1163181>. Acesso em: 15 jul. 2024.

MARCUZZO, F. F. N.; CARDOSO, M. R. D.; FARIA, T. G. Chuvas no cerrado da região centro-oeste do Brasil: análise histórica e tendência futura. **Ateliê Geográfico**. Goiânia-GO, v. 6, p.112-130, 2012.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. **Semina: Ciências biológicas e da saúde**, v. 34, n. 2, p. 175-186, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0367.2013v34n2p175>.

MEYER, M. C. *et al.* **Nota Técnica - Quebramento de haste e podridão de grãos da soja**. Embrapa, 2024. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/86769593/embrapa-divulga-nota-tecnica-sobre-quebramento-de-haste-e-podridao-de-graos-da-soja#:~:text=A%20ocorr%C3%AAncia%20do%20quebramento%20de,que%20alguns%20produtores%20v%C3%AAm%20enfrentando>. Acesso em: 16 jul. 2024.

MILAGRES, C. A. *et al.* A novel species of *Diaporthe* causing leaf spot in *Pachira glabra*. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, p. 460-467, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0242-0>.

MIRANDA, E. E. *et al.* Hydrological dynamics in the Pantanal biome. **Journal of Hydrology**, v. 603, p. 127-139, 2021.

MORGAN-JONES, G. The *Diaporthe/Phomopsis* complex: taxonomic considerations. In: **World Soybean Research Conference**. 1989. p. 1699-1706.

NETO, A. L. F. de. *et al.* **Cultivares de soja e épocas de semeadura para reação à podridão de grãos da soja**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2023. 67 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1162271>. Acesso em: 17 jul. 2024.

PETROVIC, K. *et al.* *Diaporthe* seed decay of soybean *Glycine max* (L.) Merr. is endemic in the United States, but new fungi are involved. **Plant Disease**, v. 105, p. 1621– 1629, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1094/pdis-03-20-0604-re>.

PIOLI, R. N. *et al.* Morphologic, molecular, and pathogenic characterization of *Diaporthe phaseolorum* variability in the core soybean-producing area of Argentina. **Phytopathology**, v. 93, n. 2, p. 136-146, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.2.136>.

POSADA, D. jModelTest: phylogenetic model averaging. **Molecular biology and evolution**, v. 25, n. 7, p. 1253-1256, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>.

RENSBURG, J. C. van. *et al.* Characterisation of *Phomopsis* spp. associated with die-back of rooibos (*Aspalathus linearis*) in South Africa. **Studies in Mycology**, v. 55, n. 1, p. 65-74, 2006.

RIJO, L.; VASCONCELOS, I. Formação de calose e de lignina em combinações incompatíveis *Coffea* sp. - *H. vastatrix*. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGEM DO CAFEEIRO, 1983, Oeiras, Portugal. **Comunicações...** Oeiras: CIFC, p. 269-281, 1983.

RIVERO, R. M. *et al.* Developing climate-resilient crops: improving plant tolerance to stress combination. **The Plant Journal**, v. 109, n. 2, p. 373-389, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.15483>.

ROSSMAN, A. Y. *et al.* Recommendations of generic names in Diaporthales competing for protection or use. **IMA Fungus**, v. 6, p. 145-154, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5598/imafungus.2015.06.01.09>.

ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 252p. 2011.

ROTH, M. G. *et al.* Integrated management of important soybean pathogens of the United States in changing climate. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 11, n. 1, p. 17, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/jipm/pmaa013>.

SANTOS, J. M.; CORREIA, V. G.; PHILLIPS, A. J. L. Primers for mating-type diagnosis in *Diaporthe* and *Phomopsis*: their use in teleomorph induction in vitro and biological species definition. **Fungal Biology**, v. 114, n. 2-3, p. 255-270, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.01.007>.

SANTOS, L. *et al.* *Diaporthe* species on *Rosaceae* with descriptions of *D. pyracanthae* sp. nov. and *D. malorum* sp. nov. **Mycosphere**, v. 8, n. 5, p. 485-511, 2017. DOI: 485-511. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/5/2>.

SANTOS, H. G. *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2018. E-book: il. color. E-book, no formato ePub. Disponível em: <https://www.embrapa.br/solos/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1094003/sistema-brasileiro-de-classificacao-de-solos>. Acesso em: 03 jan. 2025.

SANTOS, J. M.; VRANDECIC, K.; ČOSIĆ, J.; DUVNJAK, T.; PHILLIPS, A. J. L. 2011. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**. DOI: <https://doi.org/10.3767/003158511X603719>.

SAVARY, S.; WILLOCQUET, L.; PETHYBRIDGE, S. J.; ESKER, P.; MCROBERTS, N.; NELSON, A. The global burden of pathogens and pests on major food crops. **Nature ecology & evolution**. V. 3, n. 4, p. 430– 438. 2019.

SENANAYAKE, I. C. *et al.* Families of Diaporthales based on morphological and phylogenetic evidence. **Studies in Mycology**, v. 86, p. 217-296, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.07.003>.

SILVA, A. D. A. **Taxonomy and pathogenicity of fungi associated with stem, pod and seed diseases of soybean**. 2021. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2021. Disponível em: <https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/681fc2ec-e251-48f8-b7dd-c72f9348c5c0/content>. Acesso em: 04 fev. 2025.

SINCLAIR, J. B. *Diaporthe/phomopsis* complex of soybeans. In: Wyllie TD, Scott DH, editors. Soybean diseases of the north central region. St Paul (MN): **APS Press**; p. 96–101, 1988.

SINCLAIR, J. B. Latent infection of soybean plants and seeds by fungi. **Plant Disease**, v. 75, p. 220-224, 1991. Disponível em: [https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1991Abstracts/PD\\_75\\_230.htm](https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1991Abstracts/PD_75_230.htm). Acesso em: 10 jul. 2024.

SINCLAIR, J. B. *Phomopsis* seed decay of soybeans - A prototype for studying seed disease. **Plant Disease**, v. 77, p. 329-334, 1993. <https://doi.org/10.1094/PD-77-0329>.

SOUZA, A. P. *et al.* Classificação climática e balanço hídrico climatológico no estado de Mato Grosso. **Nativa**, v. 1, n. 1, p. 34-43, 2013.

THOMPSON, S. M. *et al.* Green and brown bridges between weeds and crops reveal novel *Diaporthe* species in Australia. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 35, n. 1, p. 39-49, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3767/003158515X687506>.

UDAYANGA, D. *et al.* The *Diaporthe sojae* species complex: Phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops. **Fungal Biology**, v. 119, n. 5, p. 383-407, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2014.10.009>.

USDA - United States Department of Agricultural. **Oilseeds and Products Update**. 2024. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/compositeViz>>. Acesso em: 20 jan. 2025.

USDA – United States Department of Agriculture. (2023). **World Agricultural Supply and Demand Estimates (WASDE)**. Washington, DC: USDA.

VASILYEVA, L. N.; ROSSMAN, A. Y.; FARR, D. F. New species of the Diaporthales from eastern Asia and eastern North America. **Mycologia**, v. 99, n. 6, p. 916-923, 2007.

VECHIATO, M. H. *et al.* Caracterização de isolados de *Diaporthe* spp. e *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 2, p. 159-168, 2003.

VERSARI, L. R.; WRUCK, D. S. M. Fungos associados ao apodrecimento de vagens e grãos de soja nas safras 2020/2021 e 2021/2022. In: ENCONTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AGROSSUSTENTÁVEIS, 6.; JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL, 11., 2022. Sinop. **Resumos**. Brasília, DF: Embrapa, 2022. p. 30. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1151156>. Acesso em: 12 jul. 2024.

VIDIĆ, M. *et al.* Review of soybean resistance to pathogens. **Ratarstvo i povrtarstvo/Field and Vegetable Crops Research**, v. 50, n. 2, p. 52-61, 2013.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, J.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. (eds), **PCR protocols: a guide to methods and applications**: 315–322 Academic Press, San Diego, California, USA. 1990.

WRUCK, D. S. M. *et al.* Incidência de apodrecimento de grãos e vagens de soja (AVG) em diferentes sistemas de plantio direto. ENCONTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AGROSSUSTENTÁVEIS, 6.; JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL, 11., 2022. Sinop. Resumos: **Anais**. Brasília, DF: Embrapa. p. 9, 2022.

YORINORI, J. T. **Cancro da haste da soja**. Londrina. Embrapa Soja, Comunicado técnico. 7 p. 1990.

YORINORI, J. T. *et al.* Epifítia do cancro da haste da soja nos municípios de Castro, Palmeira, Ponta Grossa e Tibagi no Paraná e Rondonópolis, no Mato Grosso, na safra de 1989/89. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 5., 1989, Campo Grande. **Resumos**. Londrina: Embrapa-CNPSO, 1989. p. 22-23.

YORINORI, J. T. **Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle**. Londrina: Embrapa - Soja, (Circular Técnica,14). 75 p. 1996.

## 8. ANEXOS

### Anexo 1. Informações das sequências referências utilizadas nas análises filogenéticas.

Espécie	Nº coleção	Hospedeiro	Origem	ITS	Btub	TEF	Calmd	Referências
<i>D. acericola</i>	MFLUCC 17-0956	<i>Acer negundo</i>	Itália	KY964224	KY964074	KY964180	KY964137	Dissanayake et al. 2017
<i>D. acuta</i>	PSCG 046	<i>Pyrus pyrifolia</i>	China	MK626958	MK691224	MK654803	MK691124	Guo et al. 2020
<i>D. acuta</i>	PSCG 047*	<i>Pyrus pyrifolia</i>	China	MK626957	MK691225	MK654802	MK691125	Guo et al. 2020
<i>D. acutispora</i>	LC6160	<i>Camellia sasanqua</i>	Japão	KX986763	KX999194	KX999154	KX999273	Guo et al. 2017
<i>D. acutispora</i>	LC6161	<i>Coffea</i> sp.	China	KX986764	KX999195	KX999155	KX999274	Guo et al. 2017
<i>D. alangii</i>	CFCC 52556	<i>Alangium kurzii</i>	China	MH121491	MH121573	MH121533	MH121415	Yang et al. 2018
<i>D. amarantophila</i>	MAFF 246901	<i>Amaranthus tricolor</i> L.	Japão	LC459576.1	LC459580.1	LC459578.1	LC459584.1	Minoshima et al. 2020
<i>D. amarantophila</i>	MAFF 246900	<i>Amaranthus tricolor</i> L.	Japão	LC459575	LC459579	LC459577	LC459583	Rossmann et al. 2015
<i>D. ambigua</i>	CBS 114015	<i>Pyrus communis</i>	África do Sul	KC343010	KC343978	KC343736	KC343252	Gomes et al. 2013
<i>D. ambigua</i>	CBS 187.87	<i>Helianthus annuus</i>	Itália	KC343015.1	KC343983.1	KC343741.1	KC343257.1	Gomes et al. 2013
<i>D. ambigua</i>	CBS 123210	<i>Foeniculum vulgare</i>	Portugal	KC343012.1	KC343980.1	KC343738.1	KC343254.1	Gomes et al. 2013
<i>D. angelicae</i>	CBS 501.90	<i>Heracleum sphondylium</i>	França	KC343030.1	KC343998.1	KC343756.1	KC343272.1	Gomes et al. 2013
<i>D. angelicae</i>	CBS 100871	<i>Foeniculum vulgare</i>	Itália	KC343025.1	KC343993.1	KC343751.1	KC343267.1	Gomes et al. 2013
<i>D. angelicae</i>	CBS 111592*	<i>Heracleum sphondylium</i>	Austria	KC343027	KC343995	KC343753	KC343269	Gomes et al. 2013
<i>D. anhuiensis</i>	CNUCC 201902	<i>Cunninghamia lanceolata</i>	China	MN219727	MN227009	MN224669	MN224550	Zhou and Hou 2019
<i>D. anhuiensis</i>	CNUCC 201901*	<i>Cunninghamia lanceolata</i>	China	MN219718	MN227008	MN224668	MN224549	Zhou and Hou 2019
<i>D. arctii</i>	DP0482	<i>Arctium</i> sp.	Austria	KJ590736	KJ610891	KJ590776	KJ612133	Udayanga et al. 2015
<i>D. arecae</i>	CBS 535.75	<i>Citrus</i> sp.	Suriname	KC343033	KC344001	KC343759	KC343275	Gomes et al. 2013
<i>D. arecae</i>	CBS 161.64*	<i>Areca catechu</i>	Índia	KC343032	KC344000	KC343758	KC343274	Gomes et al. 2013
<i>D. arengae</i>	CBS 114979*	<i>Arenga engleri</i>	China	KC343034	KC344002	KC343760	KC343276	Gomes et al. 2013
<i>D. aseana</i>	MFLUCC 12-0299a*	<i>On dead leaves</i>	Tailândia	KT459414	KT459432	KT459448	KT459464	Dissanayake et al. 2017
<i>D. aspalathi</i>	CBS 117169	<i>Aspalathus linearis</i>	África do Sul	NR_165951.1	KC344004.1	KC343762.1	KC343278.1	Gomes et al. 2013
<i>D. aspalathi</i>	CBS 117168	<i>Aspalathus linearis</i>	África do Sul	KC343035.1	KC344003.1	KC343761.1	KC343277.1	Gomes et al. 2013
<i>D. aspalathi</i>	CBS 117500	<i>Aspalathus linearis</i>	África do Sul	KC343037.1	KC344005.1	KC343763.1	KC343279.1	Gomes et al. 2013
<i>D. batatas</i>	CBS 122.21	<i>Ipomoea batata</i>	EUA	KC343040	KC344008	KC343766	KC343282	Gomes et al. 2013
<i>D. biconispora</i>	JZQ12	<i>Acer palmatum</i>	China	OQ651977.1	OQ653983.1	OQ653980.1	OQ653989.1	Wan, 2023
<i>D. biconispora</i>	JZQ24	<i>Acer palmatum</i>	China	OQ651978.1	OQ653984.1	OQ653981.1	OQ653990.1	Wan, 2023
<i>D. brasiliensis</i>	CBS 133183*	<i>Aspidosperma tomentosus</i>	Brasil	KC343042	KC344010	KC343768	KC343284	Gomes et al. 2013
<i>D. caatingaensis</i>	URM 7486*	<i>Tacinga inamoena</i>	Brasil	KY085926	KY115600	KY115603	KY115597	Crous et al. 2017
<i>D. caryae</i>	CFCC 52563	<i>Carya illinoensis</i>	China	MH121498	MH121580	MH121540	MH121422	Yang et al. 2018
<i>D. caryae</i>	CFCC 52564	<i>Carya illinoensis</i>	China	MH121499	MH121581	MH121541	MH121423	Yang et al. 2018
<i>D. caulivora</i>	CBS 127268	<i>Glycine max</i>	Croácia	KC343045.1	KC344013.1	KC343771.1	KC343287.1	Gomes et al. 2013
<i>D. caulivora</i>	CBS 178.55	<i>Glycine soja</i>	Canadá	KC343046.1	KC344014.1	KC343772.1	KC343288.1	Gomes et al. 2013
<i>D. cercidis</i>	CFCC 52565	<i>Cercis chinensis</i>	China	MH121500	MH121582	MH121542	MH121424	Yang et al. 2018
<i>D. chrysalidocarpi</i>	SAUCC194.33	<i>Chrysalidocarpus lutescens</i>	China	MT822561	MT855758	MT855874	MT855645	Huang et al. 2021
<i>D. chrysalidocarpi</i>	SAUCC194.35*	<i>Chrysalidocarpus lutescens</i>	China	MT822563	MT855760	MT855876	MT855646	Huang et al. 2021

<i>D. cichorii</i>	MFLUCC 17-1023*	<i>Cichorium intybus</i>	Itália	KY964220	KY964104	KY964176	KY964133	Dissanayake et al. 2017
<i>D. citri</i>	CBS 135422	<i>Citrus</i> sp.	EUA	KC843311	KC843187	KC843071	KC843157	Guarnaccia et al. 2017; Udayanga et al. 2014
<i>D. citri</i>	LGMF946	<i>Glycine max</i>	Brasil	KC343053.1	KC344021.1	KC343779.1	KC343295.1	Gomes et al. 2013
<i>D. citri</i>	CBS 230.52	<i>Citrus sinensis</i>	Suriname	KC343052.1	KC344020.1	KC343778.1	KC343294.1	Gomes et al. 2013
<i>D. convolvuli</i>	CBS 124654	<i>Convolvulus arvensis</i>	Turquia	KC343054	KC344022	KC343780	KC343296	Gomes et al. 2013
<i>D. crotalariae</i>	CBS 162.33	<i>Crotalaria spectabilis</i>	EUA	KC343056.1	KC344024.1	KC343782.1	KC343298.1	Gomes et al. 2013
<i>D. cucurbitae</i>	CBS 136.25	<i>Cucumis sativus</i>	*	KC343031	KC343999	KC343757	KC343273	Udayanga et al. 2014
<i>D. cuppatea</i>	CBS 117499	<i>Aspalathus linearis</i>	África do Sul	KC343057	KC344025	KC343783	KC343299	Udayanga et al. 2012
<i>D. decedens</i>	CBS 109772	<i>Corylus avellana</i>	Austrália	KC343059	KC344027	KC343785	KC343301	Gomes et al. 2013
<i>D. endophytica</i>	LGMF948	<i>Glycine max</i>	Brasil	KC343072.1	KC344040.1	KC343798.1	KC343314.1	Gomes et al. 2013
<i>D. endophytica</i>	LGMF935	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343070.1	KC344038.1	KC343796.1	KC343312.1	Gomes et al. 2013
<i>D. endophytica</i>	CBS 133811	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343065	KC344033	KC343791	KC343307	Gomes et al. 2013
<i>D. eres</i>	CBS 445.62	<i>Alliaria petiolata</i>	Holanda	KC343091.1	KC344059.1	KC343817.1	KC343333.1	Gomes et al. 2013
<i>D. eres</i>	CBS 109767	<i>Acer campestre</i>	Austrália	KC343075.1	KC344043.1	KC343801.1	KC343317.1	Gomes et al. 2013
<i>D. eres</i>	CBS 439.82	<i>Cotoneaster</i> sp.	Escócia	KC343090.1	KC344058.1	KC343816.1	KC343332.1	Gomes et al. 2013
<i>D. eres</i>	CBS 101742	<i>Fraxinus</i> sp.	Holanda	KC343073.1	KC344041.1	KC343799.1	KC343315.1	Gomes et al. 2013
<i>D. eugeniae</i>	CBS 444.82	<i>Eugenia aromatica</i>	Indonésia	KC343098	KC344066	KC343824	KC343340	Gomes et al. 2013
<i>D. fructicola</i>	MAFF 246408	<i>Passiflora edulis</i> x <i>P. edulis</i> f. <i>flav</i>	Japão	LC342734	LC342736	LC342735	LC342738	Crous et al. 2019
<i>D. fructicola</i>	MAFF 246409	<i>Passiflora edulis</i> x <i>P. edulis</i> f. <i>flav</i>	Japão	LC342739	LC342741	LC342740	LC342743	Crous et al. 2019
<i>D. fulvicolor</i>	PSCG 051*	<i>Pyrus pyrifolia</i>	China	MK626859	MK691236	MK654806	MK691132	Guo et al. 2020
<i>D. fulvicolor</i>	PSCG 057	<i>Pyrus pyrifolia</i>	China	MK626858	MK691233	MK654810	MK691131	Guo et al. 2020
<i>D. ganjae</i>	CBS 180.91	<i>Cannabis sativa</i>	EUA	KC343112	KC344080	KC343838	KC343354	Gomes et al. 2013
<i>D. guangxiensis</i>	JZBH 320094*	<i>Vitis vinifera</i>	China	MK335772	MK500168	MK523566	MK736727	Manawasingh et al. 2019
<i>D. gulyae</i>	MF-Ha17-042*	<i>Helianthus annuus</i>	Rússia	MK024252	MK033488	MK039420	MZ671932.1	Thompson et al. 2011
<i>D. gulyae</i>	MF-Ha17-043	<i>Helianthus ann</i>	Rússia	MK024253.1	MK033489.1	MK039421.1	MZ671933.1	Gomzhina et al. 2022
<i>D. guttulata</i>	CGMCC3.20100	*	China	MT385950	MT424705	MT424685	MW022470	Gomes et al. 2013
<i>D. helianthi</i>	CBS 592.81	<i>Helianthus ann</i>	Sérvia	KC343115	KC344083	KC343841	KC343357	Gomes et al. 2013
<i>D. hongkongensis</i>	CBS 115448*	<i>Dichroa febrifuga</i>	China	KC343119	KC344087	KC343845	KC343361	Gomes et al. 2013
<i>D. hongkongensis</i>	SAUCC194.81	<i>Milletia reticulata</i>	China	MT822609	MT855806	MT855921	MT855688	Huang et al. 2021
<i>D. hongkongensis</i>	SAUCC194.87	<i>Camelia sinensis</i>	China	MT822615	MT855812	MT855927	MT855694	Huang et al. 2021
<i>D. hordei</i>	CBS 481.92	<i>Hordeum vulgare</i>	Noruega	KC343120	KC344088	KC343846	KC343362	Gomes et al. 2013
<i>D. hubeiensis</i>	JZB320123	<i>Vertis vinifera</i>	China	MK335809	MK500147	MK523570	MK500235	Manawasingh et al. 2019
<i>D. inconspicua</i>	CBS 133813	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343123.1	KC344091.1	KC343849.1	KC343365.1	Gomes et al. 2013
<i>D. infecunda</i>	CBS 133812	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343126	KC344094	KC343852	KC343368	Gomes et al. 2013
<i>D. infecunda</i>	LGMF940	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343133.1	KC344101.1	KC343859.1	KC343375.1	Gomes et al. 2013
<i>D. infecunda</i>	LGMF908	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343127.1	KC344095.1	KC343853.1	KC343369.1	Gomes et al. 2013
<i>D. infecunda</i>	LGMF917	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343129.1	KC344097.1	KC343855.1	KC343371.1	Gomes et al. 2013
<i>D. infecunda</i>	LGMF912	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343128.1	KC344096.1	KC343854.1	KC343370.1	Gomes et al. 2013
<i>D. infecunda</i>	LGMF933	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343132.1	KC344100.1	KC343858.1	KC343374.1	Gomes et al. 2013
<i>D. limonicola</i>	CPC 28200*	<i>Citrus limon</i>	Malta	MF418422	MF418582	MF418501	MF418256	Guarnaccia; Crous 2017

<i>D. longicolla</i>	CBS 127267	<i>Glycine max</i>	Croácia	KC343199	KC344167	KC343925	KC343441	Udayanga et al. 2015
<i>D. longicolla</i>	CBS 116023	<i>Glycine max</i>	EUA	KC343198	KC344166	KC343924	KC343440	Udayanga et al. 2015
<i>D. longicolla</i>	FAU644	<i>Glycine max</i>	EUA	KJ590730.1	KJ610885.1	KJ590769.1	KJ612126.1	Udayanga et al. 2014
<i>D. longicolla</i>	FAU599	<i>Glycine max</i>	EUA	KJ590728.1	KJ610883.1	KJ590767.1	KJ612124.1	Udayanga et al. 2014
<i>D. longispora</i>	CBS 194.36	<i>Ribes sp.</i>	Canadá	KC343135	KC344103	KC343861	KC343377	Gomes et al. 2013
<i>D. lusitanicae</i>	CBS 123212	<i>Foeniculum vulgare</i>	Portugal	KC343136.1	KC344104.1	KC343862.1	KC343378.1	Gomes et al. 2013
<i>D. machili</i>	SAUCC194.69	<i>Pometia pinnata</i>	China	MT822597	MT855794	MT855909	MT855677	Huang et al. 2021
<i>D. machili</i>	SAUCC194.111*	<i>Machilus pingii</i>	China	MT822639	MT855836	MT855951	MT855718	Huang et al. 2021
<i>D. malorum</i>	CBS 142383	<i>Malus domestica</i>	Portugal	KY435638	KY435668	KY435627	KY435658	Santos et al. 2017
<i>D. malorum</i>	CAA752*	<i>Malus domestica</i>	Portugal	KY435643	KY435671	KY435630	KY435661	Santos et al. 2017
<i>D. malorum</i>	CAA740	<i>Malus domestica</i>	Portugal	KY435642	KY435670	KY435629	KY435660	Santos et al. 2017
<i>D. manihotia</i>	CBS 505.76	<i>Manihot utilissima</i>	Ruanda	KC343138	KC344106	KC343864	KC343380	Gomes et al. 2013
<i>D. mayteni</i>	CBS 133185*	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343139	KC344107	KC343865	KC343381	Gomes et al. 2013
<i>D. melitensis</i>	CPC 27873*	<i>Citrus limon</i>	Malta	MF418424	MF418584	MF418503	MF418258	Guarnaccia; Crous 2017
<i>D. melonis</i>	CBS 507.78	<i>Cucumis melo</i>	EUA	KC343142	KC344110	KC343868	KC343384	Gomes et al. 2013
<i>D. melonis</i>	CBS 435.87	<i>Glycine soja</i>	Indonésia	KC343141.1	KC344109.1	KC343867.1	KC343383.1	Gomes et al. 2013
<i>D. middletonii</i>	SAUCC194.27	<i>Litchi chinensis</i>	China	MT822555	MT855752	MT855868	MT855639	Huang et al. 2021
<i>D. middletonii</i>	SAUCC194.45	<i>Lithocarpus glaber</i>	China	MT822573	MT855770	MT855886	MT855654	Huang et al. 2021
<i>D. middletonii</i>	SAUCC194.46	<i>Lithocarpus glaber</i>	China	MT822574	MT855771	MT855887	MT855655	Huang et al. 2021
<i>D. middletonii</i>	SAUCC194.48	<i>Lithocarpus craibianus</i>	China	MT822576	MT855773	MT855889	MT855657	Huang et al. 2021
<i>D. millettiae</i>	GUCC9167*	<i>Millettia reticulata</i>	China	MK398674	MK502089	MK480609	MK502086	Long et al. 2019
<i>D. minusculata</i>	CGMCC3.20098	*	China	MT385957	MT424712	MT424692	MW022475	Gomes et al. 2017
<i>D. musigena</i>	CBS 129519*	<i>MEUA sp.</i>	Austrália	KC343143	KC344111	KC343869	KC343385	Crous et al. 2011
<i>D. myracrodruonis</i>	URM7972	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Brasil	MK205289	MK205291	MK213408	MK205290	Silva et al. 2019
<i>D. neoarctii</i>	CBS 109490	<i>Ambrosia trifida</i>	EUA	KC343145	KC344113	KC343871	KC343387	Gomes et al. 2013
<i>D. novem</i>	CBS 127270*	<i>Glycine max</i>	Croácia	KC343156	KC344124	KC343882	KC343398	Gomes et al. 2013
<i>D. novem</i>	CBS 127271	<i>Glycine max</i>	Croácia	KC343157.1	KC344125.1	KC343883.1	KC343399.1	Gomes et al. 2013
<i>D. novem</i>	CBS 127269	<i>Glycine max</i>	Croácia	KC343155.1	KC344123.1	KC343881.1	KC343397.1	Gomes et al. 2013
<i>D. novem</i>	LGMF943	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343159.1	KC344127.1	KC343885.1	KC343401.1	Gomes et al. 2013
<i>D. oxe</i>	CBS 133186*	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343164	KC344132	KC343890	KC343406	Gomes et al. 2013
<i>D. oxe</i>	CBS 133187	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343165	KC344133	KC343891	KC343407	Gomes et al. 2013
<i>D. pachirae</i>	COAD2074	<i>Pachira glabra</i>	Brasil	MG559537	MG559541	MG559539	MG559535	Milagres et al. 2018
<i>D. pandanicola</i>	SAUCC194.82	<i>Millettia reticulata</i>	China	MT822610	MT855807	MT855922	MT855689	Huang et al. 2021
<i>D. paranensis</i>	CBS 133184*	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343171	KC344139	KC343897	KC343413	Gomes et al. 2013
<i>D. passiflorae</i>	CBS 132527	<i>Passiflora edulis</i>	América do Sul	JX069860	KY435674	KY435633	KY435664	Crous et al. 2002
<i>D. passifloricola</i>	NFIF-3-11	<i>Citrus reticulata</i> cv. <i>Nanfengmiju</i>	China	MG786598	MG925398	MG925401	MK238995	Chaisiri et al. 2021
<i>D. passifloricola</i>	NFIF-3-19	<i>Citrus reticulata</i> cv. <i>Nanfengmiju</i>	China	MG786599	MG925399	MG925402	MK238996	Chaisiri et al. 2021
<i>D. passifloricola</i>	NFIF-3-21	<i>Citrus reticulata</i> cv. <i>Nanfengmiju</i>	China	MG786600	MG925400	MG925403	MK238997	Chaisiri et al. 2021
<i>D. perseae</i>	CBS 151.73	<i>Persea gratissima</i>	Holanda	KC343173	KC344141	KC343899	KC343415	Gomes et al. 2013
<i>D. pescicola</i>	MFLU 16-0105*	<i>Prunus persica</i>	China	KU557555	KU557579	KU557623	KU557603	Dissanayake et al. 2017

<i>D. phaseolorum</i>	CBS 139281	<i>Phaseolus vulgaris</i>	EUA	KJ590738	KJ610893	KJ590739	KJ612135	Udayanga et al. 2015
<i>D. phaseolorum</i>	LGMF941	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343180.1	KC344148.1	KC343906.1	KC343422.1	Gomes et al. 2013
<i>D. phaseolorum</i>	LGF927	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Brasil	KC343179.1	KC344147.1	KC343905.1	KC343421.1	Gomes et al. 2013
<i>D. podocarpi-macrophylli</i>	LC6155*	<i>Podocarpus macrophyllus</i>	Japão	KX986774	KX999207	KX999167	KX999278	Gao et al. 2017
<i>D. podocarpi-macrophylli</i>	LC6200	<i>Podocarpus macrophyllus</i>	China	KX986769	KX999201	KX999161	KX999276	Gao et al. 2017
<i>D. pometiiae</i>	SAUCC194.19	<i>Persea americana</i>	China	MT822547	MT855744	MT855861	MT855632	Huang et al. 2021
<i>D. pometiiae</i>	SAUCC194.72*	<i>Pometia pinnata</i>	China	MT822600	MT855797	MT855912	MT855679	Huang et al. 2021
<i>D. pometiiae</i>	SAUCC194.73	<i>Heliconia metallica</i>	China	MT822601	MT855798	MT855913	MT855680	Huang et al. 2021
<i>D. pseudomangiferae</i>	CBS 101339*	<i>Mangifera indica</i>	República Dominicana	KC343181	KC344149	KC343907	KC343423	Gomes et al. 2013
<i>D. pseudophoenicicola</i>	CBS 462.69*	<i>Phoenix dactylifera</i>	Espanha	KC343184	KC344152	KC343910	KC343426	Gomes et al. 2014
<i>D. pterocarpicola</i>	MFLUCC 10-0580a*	<i>Pterocarpus indicus</i>	*	JQ619887	JX275441	JX275403	JX197433	Udayanga et al. 2012
<i>D. pterocarpicola</i>	MFLUCC 10-0580b	<i>Pterocarpus indicus</i>	*	JQ619888	JX275442	JX275404	JX197434	Udayanga et al. 2012
<i>D. pyracanthae</i>	CBS 142384	<i>Pyracantha coccinea</i>	Portugal	KY435635	KY435666	KY435625	KY435656	Santos et al. 2017
<i>D. pyracanthae</i>	CAA487*	<i>Pyracantha coccinea</i>	Portugal	KY435636	KY435667	KY435626	KY435657	Santos et al. 2017
<i>D. racemosae</i>	CBS 143770	<i>Euclea racemosa</i>	África do Sul	MG600223	MG600227	MG600225	MG600219	Marin-Felix et al. 2019
<i>D. raonikayaporum</i>	CBS 133182*	<i>Spondias mombin</i>	Brasil	KC343188	KC344156	KC343914	KC343430	Gomes et al. 2013
<i>D. rossmaniae</i>	CAA 762*	<i>Vaccinium corymbosum</i>	*	MK792290	MK837914	MK828063	MK883822	Hilario et al. 2020
<i>D. sambucusii</i>	CFCC 51986	<i>Sambucus williamsii</i>	China	KY852495	KY852511	KY852507	KY852499	Yang et al. 2018
<i>D. schini</i>	CBS 133181	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343191	KC344159	KC343917	KC343433	Gomes et al. 2013
<i>D. schoeni</i>	MFLUCC 17-2930	<i>Schoenus nigricans</i>	Itália	KY964226	KY964109	KY964182	KY964139	Dissanayake et al. 2017
<i>D. schoeni</i>	MFLU 15-2609	<i>Schoenus nigricans</i>	Itália	KY964229	KY964112	KY964185	KY964141	Dissanayake et al. 2017
<i>D. sclerotoides</i>	CBS 296.67	<i>Cucumis sativus</i>	Holanda	KC343193	KC344161	KC343919	KC343435	Gomes et al. 2013
<i>D. sennae</i>	CFCC 51636*	<i>Senna bicapsularis</i>	China	KY203724	KY228891	KY228885	KY228875	Yang et al. 2017
<i>D. sojiae</i>	CBS 116020	<i>Symphyotrichum subulatum</i>	EUA	KC343176.1	KC344144.1	KC343902.1	KC343418.1	Gomes et al. 2013
<i>D. sojiae</i>	CBS 116019	<i>Capersonia palustris</i>	EUA	KC343175.1	KC344143.1	KC343901.1	KC343417.1	Gomes et al. 2013
<i>D. sojiae</i>	FAU459	<i>Stokesia laevis</i>	EUA	KJ590709.1	KJ610865.1	KJ590752.1	KJ612106.1	Udayanga et al. 2015
<i>D. sojiae</i>	FAU635	<i>Glycine max</i>	EUA	KJ590719.1	KJ610875.1	KJ590762.1	KJ612116.1	Udayanga et al. 2015
<i>D. sojiae</i>	DP0623	<i>Glycine max</i>	EUA	KJ590708.1	KJ610864.1	KJ590751.1	KJ612105.1	Udayanga et al. 2015
<i>D. stewartii</i>	CBS 193.36	<i>Cosmos bipinnatus</i>	*	FJ889448	JX275421	GQ250324	JX197415	Santos et al. 2010; Udayanga et al. 2012
<i>D. subordinaria</i>	CBS 101711	<i>Plantago lanceolata</i>	Nova Zelândia	KC343213	KC344181	KC343939	KC343455	Gomes et al. 2013
<i>D. subordinaria</i>	CBS 464.90	<i>Plantago lanceolata</i>	África do Sul	KC343214	KC344182	KC343940	KC343456	Gomes et al. 2013
<i>D. taoicola</i>	PSG485	<i>Prunus persica</i>	China	MK626869	MK691227	MK654812	MK691120	Dissanayake et al. 2017
<i>D. tecomae</i>	CBS 100547	<i>Tabebuia</i> sp.	Brasil	KC343215	KC344183	KC343941	KC343457	Gomes et al. 2013
<i>D. tectonae</i>	MFLUCC 12-0777	<i>Tectona grandis</i>	Tailândia	KU712430	KU743977	KU749359	KU749345	Doilom et al. 2016
<i>D. tectonendophytica</i>	MFLUCC 13-0471	<i>Tectona grandis</i>	Tailândia	KU712439	KU743986	KU749367	KU749354	Doilom et al. 2016
<i>D. tectonigena</i>	MFLUCC 12-0767*	<i>Tectona grandis</i>	Tailândia	KU712429	KU743976	KU749371	KU749358	Doilom et al. 2016
<i>D. terebinthifolii</i>	CBS 133180	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Brasil	KC343216	KC344184	KC343942	KC343458	Gomes et al. 2013
<i>D. ueckerae</i>	FAU659	<i>Cucumis melo</i>	EUA	KJ590724	KJ610879	KJ590745	KJ612120	Udayanga et al. 2015
<i>D. ueckerae</i>	FAU658	<i>Cucumis melo</i>	EUA	KJ590725	KJ610880	KJ590746	KJ612119	Udayanga et al. 2015
<i>D. ueckerae</i>	FAU660	<i>Cucumis melo</i>	EUA	KJ590723	KJ610878	KJ590744	KJ612121	Udayanga et al. 2015

<i>D. ueckerae</i>	LGMF947	<i>Glycine max</i>	Brasil	KC343203.1	KC344171.1	KC343929.1	KC343445.1	Gomes et al. 2013
<i>D. ueckerae</i>	FAU656	<i>Cucumis melo</i>	EUA	KJ590726.1	KJ610881.1	KJ590747.1	KJ612122.1	Udayanga et al. 2014
<i>D. vaccinii</i>	CBS 160.32	<i>Oxycoccus macrocarpos</i>	EUA	KC343228.1	KC344196.1	KC343954.1	KC343470.1	Gomes et al. 2013
<i>D. vaccinii</i>	CBS 118571	<i>Vaccinium corymbosum</i>	EUA	KC343223.1	KC344191.1	KC343949.1	KC343465.1	Gomes et al. 2013
<i>D. vexans</i>	CBS 127.14	<i>Solanum melongena</i>	EUA	KC343229	KC344197	KC343955	KC343471	Gomes et al. 2013
<i>D. viniferae</i>	JZBH 320071	<i>Vitis vinifera</i>	China	MK341550	MK500112	MK50010	MK500119	Manawasingh et al. 2019
<i>D. viniferae</i>	JZBH 320072	<i>Vitis vinifera</i>	China	MK341551	MK500113	MK500108	MK500120	Manawasingh et al. 2019
<i>D. vohysiae</i>	LGMF1583	<i>Vochysia divergens</i>	Brasil	MG976391	MK007527	MK007526	MK007528	Noriler et al. 2019
<i>D. woodii</i>	CBS 558.93	<i>Lupinus</i> sp.	Austrália	KC343244.1	KC344212.1	KC343970.1	KC343486.1	Gomes et al. 2013
<i>D. osmanthi</i>	GUCC9165*	<i>Osmanthus fragrans</i>	China	MK398675	MK502091	MK480610	MK502087	Long et al. 2019
<i>D. osmanthi</i>	SAUCC194.21	<i>Litchi chinensis</i>	China	MT822549	MT855746	MT855862	MT855634	Huang et al. 2021
<i>Diaporthe corylina</i>	CBS 121124	<i>Corylus</i> sp.	China	KC343004	KC343972	KC343730	KC343246	Gomes et al. 2013

(\*) – N° coleção seguido de \*, ex: GUCC9165\*, refere-se a um material ex tipo. Na coluna Origem o símbolo (\*) refere-se a ausência de informação.