

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE
PLANTAS

LUCAS GUIMARÃES RAMOS

**Identificação molecular de fungos presentes em plantas
acometidas pela anomalia da soja**

SINOP
MATO GROSSO – BRASIL
MARÇO - 2025

LUCAS GUIMARÃES RAMOS

**Identificação molecular de fungos presentes em plantas
acometidas pela anomalia da soja**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO
ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das
exigências do Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento, para obtenção do
título de Mestre.

Prof. Dr. Thiago Alexandre Santana Gilio

SINOP

MATO GROSSO – BRASIL

MARÇO - 2025

Ficha catalográfica elaborada pela Supervisão de Bibliotecas da UNEMAT Catalogação de Publicação na Fonte.
UNEMAT - Unidade padrão

R175i Ramos, Lucas Guimarães.

Identificação molecular de fungos presentes em plantas
acometidas pela anomalia da soja / Lucas Guimarães Ramos. -
Cáceres, 2025.

52f.: il.

Universidade do Estado de Mato Grosso "Carlos Alberto Reyes
Maldonado", Genética e Melhoramento de Plantas/CAC-PGMP - Alta
Floresta - Mestrado Academico, Universidade Do Estado De Mato
Grosso "Carlos Alberto Reyes Maldonado".

Orientador: Thiago Alexandre Santana Gilio.

Coorientador: Solange Maria Bonaldo.

Coorientador: Marcio Roggia Zanuzo.

1. Glycine max. 2. podridão de vagens. 3. sequenciamento. 4.
filogenia. I. Gilio, Thiago Alexandre Santana. II. Bonaldo,
Solange Maria. III. Zanuzo, Marcio Roggia. IV. Título.

UNEMAT / MTSCB

CDU 633.34

ATA DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DA PÓS-GRADUANDA LUCAS GUIMARÃES RAMOS

Às 13h30min do dia seis de março de dois mil e vinte e cinco, a Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado em epígrafe, composta pelos(as) Professores(as) Doutores(as): **Thiago Alexandre Santana Gilio, Solange Maria Bonaldo e Danilo Batista Pinho**, sendo o primeiro orientador e presidente da banca. A sessão foi aberta pelo presidente às 13h32min que apresentou os membros da banca examinadora, passando em seguida a palavra ao candidato para que apresentasse seu trabalho, intitulado “**Identificação molecular de fungos presentes em plantas acometidas pela anomalia da soja**”. Terminada a exposição às 14h11min, o candidato foi arguido pelos membros da Banca, que na sequência procederam ao julgamento, sendo, no final às 16h00min, o pós-graduando Lucas Guimarães Ramos, candidato ao Título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas, foi considerada aprovado e deverá realizar a correções solicitadas pela banca, ficando atribuído ao presidente da banca a verificação das correções. Para a conclusão do curso e obtenção do título de Mestre, a pós-graduando deverá atender às demais exigências do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas. Este resultado deverá ser homologado pelo conselho do programa. Nada mais havendo a tratar, para constar, foi lavrada a presente Ata, que após lida foi assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Sinop-MT, aos seis de março de dois mil e vinte e cinco.

Prof. Dr. Thiago Alexandre Santana Gilio
Orientador – UFMT - Universidade Federal de Mato Grosso – Sinop, MT

Documento assinado digitalmente
 **SOLANGE MARIA BONALDO**
Data: 08/03/2025 10:17:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Solange Maria Bonaldo
UFMT - Universidade Federal de Mato Grosso – Sinop, MT

Documento assinado digitalmente
 **DANILO BATISTA PINHO**
Data: 13/03/2025 15:29:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Danilo Batista Pinho
UnB - Universidade de Brasília - Brasília, DF

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus ancestrais, que abriram caminhos antes mesmo que eu pudesse enxergá-los, e às forças que guiam meus passos nas encruzilhadas da vida.

Aos que vieram antes de mim e me ensinaram que a verdadeira vitória é honrar o chão que se pisa e as raízes que nos sustentam.

À minha mãe, que, com sua dedicação e amor infinito, construiu os alicerces que sustentam cada uma das minhas vitórias.

Ao meu pai, que, com seu exemplo de resiliência e integridade, me ensinou a importância do trabalho, da honra e da persistência.

À Fernanda, que, com seu amor e companheirismo, esteve ao meu lado em cada passo desta jornada, tornando-a mais completa e feliz.

Aos amigos cujos ensinamentos e proteção ultrapassam o tangível, mas que são sentidos em cada momento importante da minha vida.

Aos que, com sua sabedoria e discernimento, ofereceram conselhos valiosos que guiaram minha trajetória.

E novamente aos meus pais que, com seu exemplo de vida, amor incondicional e sacrifício, me ensinaram a honrar quem sou e me deram asas para que eu pudesse voar com coragem e gratidão.

Que este trabalho represente não apenas uma conquista pessoal, mas também um tributo àqueles que, com amor, sabedoria e coragem, me ensinaram a acreditar no impossível.

AGRADECIMENTO

À minha família, pelo amor, apoio e compreensão incondicionais durante toda esta jornada.

À CAPES, pelo apoio financeiro e confiança em meu potencial acadêmico.

À UNEMAT, pela oportunidade de realizar minha pós-graduação e pelo suporte durante essa trajetória.

Ao Laboratório Multiusuário de Biotecnologia, Genética e Melhoramento Genético, pelo espaço, infraestrutura e materiais essenciais para este trabalho.

Ao projeto de extensão Clínica de Diagnose de Doenças de Plantas, pelo suporte técnico e pela disponibilização dos isolados.

À Fundação Rio Verde, pelo fornecimento dos isolados e pelo incentivo à pesquisa científica.

À UFMT, pela infraestrutura e recursos fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu orientador, Dr. Thiago Gilio, pela orientação, paciência e incentivo constantes.

À Dra. Solange Maria Bonaldo e ao Dr. Marcio Roggia Zanuzzo, pela valiosa contribuição e dedicação.

Aos colegas e amigos do laboratório, pelo apoio e encorajamento ao longo desta jornada.

BIOGRAFIA

Lucas Guimarães Ramos nasceu em 26 de julho de 1996, na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Desde cedo, demonstrou um profundo interesse pelas ciências naturais e pela agricultura, o que o levou a ingressar no curso de Agronomia na Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), campus Sinop.

Motivado pela busca contínua por aprimoramento e inovação, Lucas decidiu seguir carreira acadêmica e ingressou no mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). Sua pesquisa de mestrado focou na identificação de fungos associados a anomalias de e apodrecimento de vagens em plantas, utilizando técnicas moleculares avançadas.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Importância da cultura da soja	5
2.2. Doenças na soja	6
2.2.1. Principais doenças fúngicas da soja	6
2.2.1. Anomalia e quebra da soja	10
2.3. Identificação de espécies fúngicas por técnicas moleculares	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Extração de DNA	19
3.2. Amplificação e sequenciamento das regiões genômicas	19
3.4. Análises de bioinformática	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Resultados do sequenciamento e análise BLAST da região do espaçador interno transcrito	22
4.5. Análises filogenéticas.....	27
5. CONCLUSÕES.....	39
6. REFERÊNCIAS	40

RESUMO

RAMOS, LUCAS GUIMARÃES; M. Sc.: UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO; março de 2025; Identificação molecular de fungos presentes em plantas acometidas pela anomalia da soja; Orientador: Thiago Alexandre Santana Gilio, coorientadores: Solange Maria Bonaldo e Márcio Rogia Zanuzzo.

A soja (*Glycine max*) é uma das principais culturas agrícolas do mundo, sendo o Brasil o maior produtor e exportador global desse grão. Sua importância econômica se reflete não apenas na produção de grãos, mas também na geração de farelo e óleo, essenciais para a alimentação humana e animal. No entanto, a cultura da soja enfrenta diversos desafios fitossanitários, incluindo a presença de fungos patogênicos que podem comprometer a produtividade e a qualidade da colheita. Este estudo teve como objetivo identificar fungos associados a plantas afetadas pela anomalia da soja utilizando técnicas moleculares. Foram coletadas amostras de plantas sintomáticas em municípios da região médio-norte do Mato Grosso e da região sul de Rondônia. O DNA das amostras foi extraído utilizando o Kit DNeasy® (QIAGEN®) e submetido à amplificação das regiões ITS e LSU. As sequências obtidas foram alinhadas e comparadas com sequências de referência disponíveis por meio da ferramenta BLAST. Foram realizadas análises filogenéticas utilizando o método de Máxima Parcimônia. Foram construídos dendrogramas tanto para as regiões isoladas quanto para a matriz concatenada das regiões analisadas. A análise molecular revelou a presença de isolados pertencentes aos gêneros *Moniliophthora* sp., *Colletotrichum* sp., *Corynespora* sp., *Diaporthe* sp., *Fusarium* sp., *Xylaria* sp. e *Neurospora* sp. Não há registros prévios na literatura sobre a ocorrência de *Moniliophthora* sp., *Xylaria* sp. e *Neurospora* sp. em soja.

Palavras-chave: *Glycine max*, podridão de vagens, sequenciamento, filogenia.

ABSTRACT

RAMOS, LUCAS GUIMARÃES; M. Sc.: STATE UNIVERSITY OF MATO GROSSO; March 2025; Molecular identification of fungi present in plants affected by soybean anomaly; Supervisor: Thiago Alexandre Santana Gilio, co-supervisor: Solange Maria Bonaldo and Márcio Rogia Zanuzzo.

Soybean (*Glycine max*) is one of the world's main agricultural crops, with Brazil being the largest global producer and exporter of this grain. Its economic importance extends beyond grain production to the generation of soybean meal and oil, which are essential for human and animal nutrition. However, soybean cultivation faces several phytosanitary challenges, including pathogenic fungi that can compromise yield and grain quality. This study aimed to identify fungi associated with plants affected by soybean anomaly using molecular techniques. Samples of symptomatic plants were collected from municipalities in the mid-northern region of Mato Grosso and the southern region of Rondônia. DNA was extracted using the DNeasy® Kit (QIAGEN®) and amplified for the ITS and LSU regions. The obtained sequences were aligned and compared with reference sequences using the BLAST tool. Phylogenetic analyses were performed using the Maximum Parsimony method. Dendrograms were constructed for both the isolated regions and the concatenated matrix of the analyzed regions. Molecular analysis revealed the presence of isolates belonging to the genera *Moniliophthora* sp., *Colletotrichum* sp., *Corynespora* sp., *Diaporthe* sp., *Fusarium* sp., *Xylaria* sp., and *Neurospora* sp. There are no previous reports in the literature on the occurrence of *Moniliophthora* sp., *Xylaria* sp., and *Neurospora* sp. in soybean.

Keywords: *Glycine max*, pod rot, sequencing, phylogeny.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de grãos de soja a nível global (Coelho, 2024), sendo também o terceiro maior produtor de farelo de soja e o segundo maior exportador de óleo de soja (USDA, 2024). No Brasil os principais estados produtores de soja são os estados de Mato Grosso, Rio Grande do Sul, Paraná, Goiás, e Mato Grosso do Sul. Entre esses, o estado de Mato Grosso é o maior produtor na safra 2023/2024 mesmo considerando o déficit de precipitação nos primeiros meses da safra 2023/2024, que reduziu a produtividade de modo acentuado nas primeiras áreas colhidas (CONAB 2024a, 2024c; Coelho, 2024).

A importância da soja não se concentra somente no escopo da economia global, mas também, no fornecimento de alimentos e energia (Messina, 2022), conferindo ao grão função essencial na garantia da segurança alimentar e energética da população mundial (Souza et al., 2022).

Embora o Brasil esteja se destacando como um dos principais produtores mundiais de soja, impulsionado por aumentos na produtividade, expansão de fronteiras agrícolas e avanços tecnológicos, ainda existem desafios fitossanitários que afetam a quantidade e qualidade da produção. A interação entre plantas e fatores ambientais favoráveis aos fitopatógenos desempenha um papel crucial na incidência e severidade de doenças (Bettiol; Ghini, 2017).

Mudanças de temperatura alteram a morfologia e fisiologia das plantas hospedeiras, afetando suas interações simbióticas e o ciclo de vida dos patógenos que podem adaptar-se para sobreviver e se disseminar afetando também a adaptação a curto e longo prazo das interações planta-microbiota (Agrios, 2005; Trivedi et al., 2022; Xiao-Jie et al., 2022).

Nas últimas safras foram observadas ocorrências de anomalias, de quebraimento de haste (Embrapa, 2022), de apodrecimento de vagens e grãos em lavouras de soja na região médio-norte do estado de Mato Grosso (Wruck, et al., 2023), ocorrendo próximo da fase de maturação fisiológica, causando reduções de produtividade de até 30% (Embrapa, 2022).

Na safra 2020/2021, foi observado abortamento de vagens e sementes de soja com o relato da presença dos fungos patogênicos do gênero *Colletotrichum* spp., *Macrophomina* sp., *Phoma* sp., e *Diaporthe* (= *Phomopsis*). Nesses levantamentos foram observados respectivamente fungos do gênero *Colletotrichum* spp. e *Phoma* sp. em maior frequência (Nazario, 2023). Sendo estes, considerados patógenos oportunistas, sapróbios e endófitos da soja (Agroemdia, 2021).

Na safra 2021/22, cerca de 31% da área semeada de soja no Mato Grosso foi afetada pelo apodrecimento de grãos e vagens, causando danos a produção estimados entre 16% e 30% (IMEA, 2022), o que representou uma perda estimada na época de mais de R\$9,6 bilhões, segundo a cotação média da safra (EMBRAPA, 2022). Na safra 2023/2024, observou-se menor incidência de anomalias, quebras de haste e podridão de vagens. Acredita-se esse evento ocorreu devido à baixa pluviosidade causada pelo fenômeno climático *El Niño* (Faverin, 2024).

Neste sentido a causa dessa anomalia ainda é incerta, podendo ser de natureza biótica ou mesmo de natureza abiótica ou uma interação os dois fatores. No entanto, diversos fungos fitopatogênicos foram isolados de plantas afetadas (EMBRAPA, 2022).

Os sintomas surgem em diferentes estádios de desenvolvimento, sendo mais perceptíveis a partir do estágio reprodutivo R5.1, quando as vagens começam a se desenvolver e os grãos se tornam visíveis ao toque (Bonaldo, 2021; Santos et al, 2024).

Dentre os sintomas, os principais incluem apodrecimento de vagens, maturação precoce de vagens e grãos em diferentes partes da planta, abertura precoce das vagens, germinação de grãos antes da maturação completa, desenvolvimento vegetativo anormal e quebramento de hastes nas fases vegetativas (Santos et al., 2024).

Esse estágio é crucial para a definição do rendimento da cultura, caracterizado por alta demanda nutricional e sensibilidade a estresse. Problemas nesta fase afetam negativamente o enchimento dos grãos e, conseqüentemente, o rendimento e a qualidade final dos mesmos (Teng et al., 2023).

Para solucionar tais problemáticas nomeadas como anomalias na soja, a identificação da causa e de agentes causais é essencial. Quando a causa é de origem biótica, existem dois métodos principais para essa identificação: morfológica e molecular que muitas vezes devem caminhar juntas. A identificação morfológica é um método convencional que permite isolar e identificar diversos fungos fitopatogênicos, como *Colletotrichum truncatum*, *Choanephora* sp., *Fusarium* spp., *Cercospora* sp., e *Myrothecium* sp. (Bonaldo e Pereira, 2022). No entanto, dificuldades são observadas como no caso do gênero *Moniliophthora*, onde muitas vezes são inconclusivas a identificação a nível de espécies apenas com base na morfologia para algumas variações (Aslam et al., 2017).

Devido às limitações da identificação morfológica, técnicas moleculares, como PCR e sequenciamento genético, podem ser utilizadas como ferramentas precisas para superar esses desafios (Ribeiro, 2019). Essas técnicas permitem uma identificação rápida e assertiva dos agentes causais, facilitando o monitoramento e o manejo adequado das doenças nas lavouras de soja, reduzindo assim as perdas de produtividade (Aggarwal et al., 2011; Aslam et al., 2017; Ribeiro, 2019).

O presente trabalho teve como objetivo identificar através de técnicas moleculares as espécies fúngicas provenientes de plantas de soja com sintomas de anomalia provenientes dos municípios mato-grossenses de Sinop, Sorriso, Feliz Natal, Lucas do Rio Verde e Nova Guarita, bem como do município de Corumbiara e Cerejeiras, em Rondônia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância da cultura da soja

A cultura da soja é de inestimável importância econômica no mundo, constituindo como uma das principais fontes de proteína destinada a alimentação humana e animal. Sua importância não somente está associada ao consumo de seus grãos in natura, mas também a ampla variedade de produtos que podem ser oriundos de seu beneficiamento (Silva et al., 2021).

De acordo com dados levantados pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), a produção mundial de soja em 2020 foi de aproximadamente 363 milhões de toneladas. Tendo como países protagonistas na produção e exportação do grão, o Brasil, os Estados Unidos e a Argentina. Fonte?

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (2021), a exportação de soja e seus derivados acumularam um montante de US\$ 35 bilhões no ano de 2020, contribuindo significativamente para o PIB (Produto Interno Bruto) nacional e do agronegócio brasileiro, a cultura da soja é responsável pela geração de emprego e renda.

Na safra 2022/23, foi estimada a produção dos grãos em aproximadamente 154,8 milhões de toneladas, com produção liderada pelo estado do Mato Grosso, com 29,1% da produção nacional do grão (MAPA, 2023). Constituindo atualmente como o produto mais importante da maioria dos estados brasileiros, sendo principal cultura de produção (MAPA, 2023).

Estima-se que a produção de soja no próximo decênio atinja 186,7 milhões de toneladas, 20,6% a mais do que o produzido na safra 2022/23 (CONAB, 2023). Esse crescimento é impulsionado pelas projeções de área

plantada, que deverá aumentar em 27,5%, ultrapassando os atuais 43,8 bilhões de hectares (CONAB, 2023).

Paralelamente, as exportações de soja em grão projetadas para 2032/33 são de 130,4 milhões de toneladas, colocando o Brasil como responsável por 60,6% de participação nas exportações mundiais, seja em grão, farelo de soja e óleo de soja (ABIOVE; MAPA, 2023).

2.2. Doenças na soja

Embora projeções escalem o Brasil como protagonista na produção mundial de soja, tendo como base o crescente aumento de produtividade aliado a expansão de fronteiras agrícolas e aos avanços tecnológicos na cultura, ainda há fatores limitantes de produtividade que inferem na quantidade e qualidade final do produto. Fonte?

Estes fatores em sua maioria são decorrentes da interação entre as plantas e fatores ambientais favoráveis. A incidência e a severidade da doença estão intrinsicamente relacionadas a ação do ambiente e suas variações sobre o agente patogênico (Agrios, 2005; Bettiol; Ghini, 2017).

De maneira geral, os impactos das alterações de temperatura sobre as plantas hospedeiras, interferem de variadas formas sobre sua morfologia e fisiologia, decorrente disso, como efeitos secundários, o clima também interfere em suas interações simbióticas (Bettiol; Ghini, 2017; Xiao-Jie et al., 2022) e no ciclo de vida dos patógenos, conferindo adaptações para sobrevivência e dispersão para perpetuação da espécie (Agrios, 2005; Trivedi et al., 2022).

2.2.1. Principais doenças fúngicas da soja

A ocorrência de fungos fitopatogênicos, representam uma ameaça para a sanidade de ecossistemas agrícolas, resultando em perdas significantes de produtividade das lavouras (Rogério et al., 2022).

A cultura da soja apresenta grande variedade de fitopatógenos causadores de doenças na cultura, sendo alguns dos principais *Phakopsora pachyrhizi*, *Corynespora cassiicola*, *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium* spp., *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojina*, e *Diaporthe* spp. (Hartman et al., 2016; Godoy 2016).

A ferrugem da soja (nome científico) é uma das doenças mais prejudiciais para a cultura da soja, sendo responsável por enormes perdas de produtividade e aumento de custo de controle (Hartman et al., 2016; Godoy 2016). A sintomatologia da doença consiste no aparecimento de pequenas áreas necróticas onde se formam urédias que posteriormente abrem-se dispersando esporos hialinos que são carregados pelo vento (Godoy et al., 2016a; Franceschi, 2020; Henning et al., 2023).

Entretanto para a região médio-norte do estado do Mato Grosso, a doença não consiste como uma preocupação emergente. Estratégias de manejo como vazio sanitário, controle químico e utilização de cultivares precoces e utilização de cultivares com resistência genética (Godoy et al., 2020) mitigam a ocorrência do patógeno (Godoy et al., 2016a; Dalla Lana et al., 2018; Henning et al., 2023).

A mancha alvo causada pelo fungo *Corynespora cassiicola* é responsável por significativas perdas de produtividade em lavouras de soja em decorrência da desfolha em cultivares suscetíveis (Molina et al., 2019). Afeta diretamente as folhas, pecíolo, haste e vagens (Godoy et al., 2016b) da planta apresentando em sua sintomatologia pontuações pardas com halo clorótico e posteriormente vai evoluindo para manchas circulares necróticas (Godoy, 2023).

Favorecida por chuvas bem distribuídas (Godoy et al., 2023) a incidência dessa doença está relacionada em função do aumento da semeadura de cultivares suscetíveis a doença e culturas em sucessão de hospedeiras para o fitopatógeno (Frac, 2023), além da soja, o fungo infecta um

grande número de espécies de plantas, podendo persistir em restos culturais (Henning et al., 2023).

Espécies de ascomicetos do gênero *Colletotrichum* compreendem importantes fitopatógenos (Diao et al., 2015) sendo polifágo, pode infectar mais de 460 espécies vegetais, incluindo a soja (Rogerio et al., 2022).

A antracnose da soja é uma doença causada principalmente pelo fitopatógeno *Colletotrichum truncatum*. Transmitida por sementes, a doença causa morte de plântulas, lesões necróticas em cotilédones, pecíolos e folhas (Bouffleur et al., 2022).

O fungo afeta também a fase inicial de formação das vagens podendo causar queda total e deterioração dos grãos. Sua ocorrência é mais frequente em regiões com elevada precipitação e temperatura (Henning et al., 2023).

A podridão radicular, também conhecida como podridão vermelha da raiz, é causada por *Fusarium* spp. O desenvolvimento da doença é fortemente influenciado pelas condições ambientais do solo, sendo o fator mais crítico para sua progressão (Cruz et al., 2020). A doença geralmente surge no início do estágio reprodutivo da planta, podendo se manifestar em áreas isoladas ou de maneira generalizada na lavoura (Henning et al., 2023).

A infecção tem início na raiz, com o aparecimento de manchas avermelhadas, mais evidentes na raiz principal. À medida que a mancha se desenvolve, ela circunda a raiz e adquire uma tonalidade castanho-avermelhada. Na parte aérea da planta, os sintomas incluem o amarelecimento prematuro das folhas, necrose intranerval e, em casos mais severos, o abortamento das vagens (Henning et al., 2023).

Por ser uma doença relacionada ao solo, métodos de controle eficientes incluem evitar a semeadura em solos compactados ou mal drenados (Cruz et al., 2020; Hui & Berlin, 2022) e o uso de cultivares de soja de ciclo precoce (Soares et al., 2023).

A mancha olho-de-rã, causada pelo fungo *Cercospora sojina* é uma doença foliar que causa consideráveis prejuízos econômicos à cultura da soja em diversos países produtores (Barro et al., 2023). Os sintomas manifestam-se durante o estágio reprodutivo da planta, afetando vagens e caules em qualquer fase de desenvolvimento (Wise & Newman, 2015; Soares et al., 2023).

O processo inicia-se com pequenos pontos de encharcamento que evoluem para manchas visíveis nas superfícies adaxial e abaxial das folhas. Em hastes e vagens, observam-se lesões elípticas, enquanto nas sementes surgem rachaduras e manchas acinzentadas (Soares et al., 2023).

A incidência de *Cercospora kikuchii*, agente causal da mancha púrpura da semente, assim como *C. sojina*, são favorecidas por condições de calor e umidade elevados (Soares et al., 2023). Sementes de soja colonizadas por *C. kikuchii* apresentam redução na viabilidade de germinação e no vigor das plântulas, resultando em um potencial produtivo comprometido (Morais, 2022).

O gênero *Diaporthe* abrange mais de 1000 espécies de fungos que atuam como endófitos ou saprófitos em uma ampla variedade de plantas hospedeiras (Gomes et al., 2013).

Na cultura da soja, patógenos desse gênero estão relacionados à podridão de grãos, resultando em perdas significativas na qualidade do produto (Li, 2011; Petrovic et al., 2018) e também associados ao cancro da haste, uma doença que, em casos severos, pode levar à quebra das hastes (Henning et al., 2023).

A ocorrência dessas doenças está associada a condições de alta umidade e temperatura (Henning et al., 2023). Em ambientes favoráveis, resíduos culturais podem manter a viabilidade do patógeno, e peritécios podem ser formados nos cancrios de plantas de soja vivas (Petrovic et al., 2021).

Os sintomas incluem pontos negros que progridem para manchas castanho-avermelhadas ao longo da haste, causando lesões profundas e

necrose da medula (Henning et al., 2024). Nos grãos, os sintomas típicos são sementes enrugadas, alongadas e calcárias, frequentemente sem sinais externos visíveis (Petrovic, 2012; Batzer & Mueller, 2020; Petrovic et al., 2021).

2.2.1. Anomalia e quebra da soja

No Mato Grosso, na safra de 2019/20, foi observado na região Médio-Norte, o quebramento de hastes de plantas de soja e o apodrecimento de grãos e vagens nos estádios fisiológicos finais de formação (EMBRAPA, 2022), sendo responsável por significativas perdas de produtividade em áreas com histórico de elevado potencial produtivo.

A região de ocorrência de apodrecimento de grãos e vagens corresponde a 31% da área semeada de soja no Mato Grosso. Relatos de prejuízos decorrentes dessa anomalia na safra 2021/22 variaram de 16% a 30%, sendo o prejuízo estimado em mais de R\$9,6 bilhões tendo como referência a cotação média na respectiva safra (IMEA, 2022; EMBRAPA, 2022).

Dado que este problema é relativamente recente, informações relacionadas a essa anomalia são, em sua maioria, oriundas da observação dos sintomas a campo. Não sendo possível encontrar um consenso para a determinação precisa, se o agente causal da anomalia é de natureza biótica, abiótica ou até mesmo resultante de uma interação complexa entre ambas (EMBRAPA, 2022).

No entanto, através do isolamento a partir de órgãos vegetais de plantas acometidas pelos sintomas de anomalia de apodrecimento de vagens e grãos, foram identificados uma ampla variedade de fungos fitopatogênicos (EMBRAPA, 2022; Bonaldo e Pereira 2022).

Na safra 2021/2022, foram observados sintomas de abortamento de vagens e sementes em diferentes estádio de desenvolvimento da semente, com perceptível observação a partir do estádio reprodutivo, especificamente

R5.1 , onde a vagem formada apresentam os grãos perceptíveis ao toque (Bonaldo e Pereira, 2022; Santos et al., 2024).

Nesta fase, é nítido como sintoma o apodrecimento das vagens (Figura 1), todavia, outros sintomas são observados como maturação precoce de vagens e grãos em terços diferentes das plantas, abertura precoce das vagens, germinação de grãos antecedendo a maturação final, desenvolvimento vegetativo incomum e quebramento de hastes (Santos et al., 2024).



Figura 1. Sintomas de anomalias em plantas de soja: **(a)** Visão geral da planta de soja apresentando anomalias nas vagens com marcações para identificação; **(b, c, d)** Vagens com grãos em processo de deterioração; **(e)** Vagem com sintoma de "enxarcamento" externo; **(f)** Vagem aberta evidenciando crescimento micelial de fungo nos grãos; **(g)** Vagem com grãos apresentando germinação precoce; **(h)** Grão germinado precocemente, com degradação do tegumento.

Este estágio é crítico para estabelecimento do rendimento da cultura, caracterizado por alta demanda nutricional e alta sensibilidade a estresse. Adversidades oriundas nessa fase de desenvolvimento, acarretam negativamente no enchimento de grãos e consequentemente no rendimento

dos mesmos, afetando não só quantitativamente quanto em qualidade final do grão (Zhenning et al., 2023).

Nos estudos realizados por Bonaldo e Pereira (2022) na safra 2021/2022, foram avaliadas 61 amostras de plantas de soja, sintomáticas para abortamento e apodrecimento de vagens de diversos municípios Matogrossenses (Novo Mundo, Guarantã do Norte, Marcelândia, Tabaporã, Sinop, União do Sul, Santa Carmem, Sorriso, Nova Ubitatã, Nova Mutum, Nova Maringá, Campo Novo do Parecis e Porto dos Gaúchos) e do município rondoniense de Seringueiras.

No respectivo estudo, foi abordado além da anomalia de apodrecimento de vagens, o tombamento por quebra de haste e germinação em vagem de grãos de soja em plantas anômalas (Bonaldo e Pereira, 2022).

A precipitação contínua pode provocar um molhamento persistente da vagem, permitindo que a água penetre através da sua parede e cause a sua ruptura (Wiebold, 2014). Esse fenômeno pode, então, iniciar o processo de germinação dos grãos expostos (Santos, 2018).

Entretanto, a precipitação mensal acumulada no período da safra 2021/2022 de soja na região norte do Mato Grosso foi a menor entre as safras anteriores, totalizando no mês de fevereiro, período de colheita de soja 457,9 mm e 291,9 mm no período de enchimento de grãos (Embrapa Agrossilvipastoril, 2024).

Características como a impermeabilidade, a coloração do tegumento dos grãos, a presença de cerosidade na epiderme e um elevado teor de lignina são consideradas importantes para os genótipos de soja (Silva, 2003; França Neto et al. 2007) sendo assim uma alternativa a mitigação da germinação em vagens de soja.

Em estudos realizados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2023), foram avaliadas 42 cultivares de soja geneticamente

modificadas e 12 cultivares convencionais quanto à reação à anomalia (Farias Neto et al., 2023).

Entretanto, na análise conjunta entre diversas instituições, foram observadas vagens com sintomas de podridão em ambos os tipos de cultivares, tanto convencionais quanto geneticamente modificadas, evidenciando que, apesar da variabilidade genética entre as cultivares, a anomalia pode afetar igualmente os diferentes tipos de soja (Farias Neto et al., 2023).

Demais experimentos realizados mostraram ser inconclusivos para elucidar as anomalias de podridão de vagens, como observados em análises fitopatológicas de sementes de soja (Wruck et al., 2022a) e avaliações de apodrecimentos em diferentes sistemas de plantio direto (Wruck et al., 2022b).

Em experimentos visando identificação de fungos associados ao apodrecimento de vagens, das safras 2020/2021 e 2021/2022, foram observados em vagens e grãos sintomáticos maior incidência de *Diaporthe* sp. e *Fusarium* sp., porém, fatores associados a ocorrência da anomalia não foram elucidados (Versari, Wruck, 2022).

Especulações acerca da natureza da anomalia, variam desde relações fonte-dreno no desenvolvimento da doença, e até mesmo de fitopatógenos encontrados em plantas que apresentam sintomas de anomalia (EMBRAPA, 2022). No entanto, alguns trabalhos que buscaram investigar e agregar informações acerca desta doença emergente como o de Santos et al. (2024) apresentaram ampla variedade de causas associadas como: (1) Indisponibilidade hídrica; (2) Complexo *Phomopsis* / *Diaporthe*; (3) Teor de lignina.

Todavia, embora haja relações entre o sintoma de abertura de vagens em plantas anômalas em estádios fenológicos críticos para o rendimento da cultura da soja e indisponibilidade hídrica, é inconclusivo que este fator seja causador da anomalia (Santos et al., 2024).

Acerca da infecção por complexo *Phomopsis* / *Diaporthe*, é notável a distinção das condições para infecção do fitopatógeno e aparecimentos dos sintomas (Santos et al., 2024), uma vez que a podridão de grãos é intensificada por condições climáticas caracterizadas por condições de alta umidade (EMBRAPA, 2023), o que é contrastante com as condições pluviométricas da safra 2021/2022, que apresentou menor precipitação acumulada em relação a outras safras (486,4 mm em dezembro, 424,0 mm em janeiro e 502,2 mm em fevereiro) e maior incidência de plantas anômalas (EMBRAPA, 2022; Santos et al., 2024).

Outra possível associação de causa está relacionada ao teor de lignina (Santos et al., 2024). A lignina consiste em um polímero natural de estrutura complexa, sendo um dos principais constituintes da parede celular dos vegetais e responsável por conferir resistência a pressão, rigidez e resistência aos tecidos vegetais (Lewis; Yamamoto, 1990; Panobianco, 1997) e confere ao tecido vegetal resistência mecânica, proteção a parede celular, e papel essencial na fisiologia das plantas e mitigando ataques de fitopatógenos (Moura et al., 2010; Trzeciak, 2013; Alemoloye et al., 2021).

No entanto, alguns fungos desenvolvem-se como saprófitas e adquirem nutrientes através de restos vegetais em decomposição. Fonte?

Estes saprófitas, através da produção e exsudação de enzimas lignolíticas (LEs) (Alemoloye et al., 2021) ou enzimas modificadoras de lignina (LMEs), podem modificar ou degradar a lignina em moléculas menos complexas através de sistemas enzimáticos como lacase (LCC), lignina peroxidase (LiP), peroxidase de manganês (MnP) e peroxidase versátil (Vp), (Xiangqian et al., 2019; Alemoloye et al., 2020; Alemoloye et al. 2021).

Baseando-se na capacidade de degradação de lignina através de LMEs, e possível relação com os sintomas observados na anomalia de soja, como quebramento de hastes e apodrecimento de vagens (Santos et al., 2024). É possível relacionar a doença a um agente causal do gênero *Moniliophthora*,

este, que apresenta-se como uma fonte promissora de enzimas oxidativas para aplicações biotecnológicas (Bronikowski, 2021).

O gênero *Moniliophthora* sp. compreende várias espécies das quais duas são encontradas no Brasil. A *M. roreri* e *M. perniciosa* são espécies de fungos patogênicos que causam danos significativos à agricultura, especialmente à produção de cacau. *M. roreri* é o agente causal da monilíase do cacaueiro (Bailey et al., 2018), enquanto *M. perniciosa* é agente causal da vassoura-de-bruxa do cacaueiro (Teixeira et al., 2014; Reyes et al., 2023).

Ambas as doenças resultam em perdas econômicas substanciais, com impactos severos na produção de cacau em países tropicais. A disseminação desses patógenos tem sido observada em várias regiões (Teixeira et al., 2014; Ferraz et al., 2021; Diaz-Valderrama et al., 2022), incluindo América do Sul, América Central e até mesmo em países africanos, representando uma ameaça significativa para a indústria do cacau em escala global (Díaz-Valderrama et al., 2022; Reyes et al., 2023).

A ocorrência de fungos pertencentes ao gênero *Moniliophthora* sp. em *Glycine max* não é comumente observada, entretanto, foi documentada por Silva (2021) como um dos possíveis agentes fitopatogênicos associados às enfermidades do caule, vagem e sementes de soja em lavouras do estado de Mato Grosso (Brasil).

Contudo, os resultados de Silva (2021), indicaram potencial associação de diferentes espécies de fungos com os sintomas mencionados na soja no Mato Grosso. Resultados estes que também foram obtidos através de estudos de Bonaldo e Pereira (2022) que investigam fungos fitopatogênicos responsáveis pelo desenvolvimento da anomalia de quebramento de hastes, apodrecimento de vagens e grãos.

2.3. Identificação de espécies fúngicas por técnicas moleculares

O monitoramento de doenças em lavouras de soja é crucial para mitigar a disseminação de fungos fitopatogênicos. A utilização de técnicas moleculares permite uma identificação rápida e precisa do agente causal, auxiliando na definição de estratégias de manejo para reduzir as perdas de produtividade (Aggarwal et al., 2011; Aslam et al., 2017; Ribeiro, 2019).

O diagnóstico de fitopatógenos pode ser realizado por meio de identificação morfológica ou por técnicas moleculares (Li et al., 2020). No entanto, a caracterização morfológica enfrenta limitações, especialmente na diferenciação de espécies próximas, devido à variação fenotípica e convergência morfológica (Silva, 2021).

As abordagens moleculares têm sido amplamente adotadas para fornecer um diagnóstico mais preciso e confiável. Dentre essas técnicas, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é amplamente utilizada para amplificação de regiões do DNA ribossomal, permitindo a diferenciação taxonômica de fungos fitopatogênicos (Raja et al., 2017; Schoch et al., 2012).

Em particular, as regiões Internal Transcribed Spacer (ITS) e Large Subunit (LSU) do DNA ribossômico são reconhecidas como marcadores eficientes por combinar regiões altamente conservadas, que facilitam a amplificação, com segmentos variáveis, que permitem a distinção entre espécies (White et al., 1990; Schoch et al., 2012).

Estudos demonstram que a ITS tem sido amplamente utilizada como código de barras molecular para fungos, enquanto a LSU complementa essa análise ao fornecer maior resolução em estudos filogenéticos (Vilgalys & Hester, 1990; Kurtzman & Robnett, 1997).

A identificação molecular baseada no sequenciamento dessas regiões tem sido aplicada para superar as limitações dos métodos tradicionais, permitindo a caracterização precisa dos agentes fitopatogênicos (Schoch et al., 2012). Além disso, a comparação das sequências obtidas com bancos de

dados de referência, como GenBank, tem sido amplamente empregada para validar a identidade dos isolados e determinar suas relações filogenéticas (White et al., 1990).

Para otimizar essa abordagem, primers específicos, como ITS1-F e ITS4-B, têm sido desenvolvidos para facilitar a amplificação seletiva de DNA fúngico, mesmo na presença de DNA vegetal, tornando a técnica mais eficaz em estudos fitopatológicos (Gardes & Bruns, 1993).

O presente estudo teve como objetivo identificar molecularmente possíveis patógenos associados a anomalias da soja por meio da amplificação das regiões ITS e LSU do DNA ribossômico. A caracterização molecular desses organismos pode fornecer informações relevantes para o diagnóstico de doenças e o desenvolvimento de estratégias eficazes no manejo de fitopatógenos na cultura da soja, fornecendo informações relevantes para o diagnóstico de doenças e para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes no manejo de fitopatógenos na cultura da soja.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados fúngicos deste trabalho (Tabela 1) foram obtidos a partir de isolamentos diretos e indiretos de amostras vegetais de plantas sintomáticas da safra 2022/2023 na Clínica de Diagnose de Doenças de Plantas do Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Sinop.

Tabela 1. Origem dos isolados da Clínica de Diagnose de Doenças de Plantas da Universidade Federal de Mato Grosso.

Isolados	Município	Orgão vegetal
C-02-1023	Sinop - MT	Haste
C-04-1023	Sinop - MT	Haste
C-05-1023	Sinop - MT	Haste
C-08-1223	Sinop - MT	Haste
01-0223	Corumbiara - RO	Vagem

08-0223	Cerejeiras - RO	Folha
11-0223	Corumbiara - RO	Vagem
12-0223	Cerejeiras - RO	Haste
126-1-0123	Nova Guarita - MT	Vagem
126-3-0123	Nova Guarita - MT	Semente
126-4-0123	Nova Guarita - MT	Vagem
127-1-0123	Nova Guarita - MT	Vagem
127-2-0123	Nova Guarita - MT	Vagem
130-1-0123	Sorriso - MT	Haste
130-2-0123A	Sorriso - MT	Vagem
130-2-0123C	Sorriso - MT	Vagem
135-0123	Sinop - MT	Haste
136-0123	Sinop - MT	Vagem
137-0123	Sinop - MT	Vagem
139-0123	Sinop - MT	Vagem
140-0123	Sinop - MT	Haste
141-0123	Sinop - MT	Semente
142-0123	Sinop - MT	Haste
147-0123	Sinop - MT	Haste
149-0123	Sinop - MT	Haste
149-1023	Sinop - MT	Haste
150-0123	Sinop - MT	Semente
150-1023	Sinop - MT	Haste
15-1023	Cerejeiras - RO	Vagem
18-0223	Cerejeiras - RO	Vagem
45-1023	Lucas do Rio Verde - MT	Haste
C-34-0424	Cerejeiras - RO	Haste
C-36-0424	Cerejeiras - RO	Haste
11-0324	Sinop - MT	Semente
56-0524	Sinop - MT	Semente
43-0424	Lucas do Rio Verde - MT	Semente

Os isolados associados aos sintomas de anomalias da soja foram encontrados em uma ampla região geográfica, abrangendo diferentes lavouras da região médio-norte do Mato Grosso e do sul de Rondônia.

No Mato Grosso, os isolados foram identificados nos municípios de Sinop (18 isolados), Nova Guarita (5 isolados), Lucas do Rio Verde (2 isolados) e Sorriso (3 isolados). No estado de Rondônia, foram encontrados isolados em Cerejeiras (6 isolados) e Corumbiara (2 isolados), onde também foi observada a ocorrência dos mesmos sintomas.

3.1. Extração de DNA

Os isolados foram cultivados em meio BD (batata dextrose), com 200g de batata inglesa limpa e descascada, 18g de dextrose, 1000mL de água destilada em incubadora sem com agitador orbital de cultivo acoplado.

Foram então realizadas coletas do tecido micelial fúngico a partir dos glóbulos das colônias presentes no meio PD utilizando pinça esterilizada e transferidas em microtubos de centrifugação de 2,0 mL. Por amostra foram coletados aproximadamente 350 mg de tecido micelial. As amostras foram armazenadas em freezer -20°C até posterior extração de DNA.

A extração de DNA foi realizada utilizando Kit comercial da QIAGEN® DNeasy® Mini Kit seguindo o protocolo do fabricante, com adaptações para lise do tecido fúngico através da utilização de beads metálicas em homogeneizador de amostras.

Para verificação qualitativa da extração de DNA dos isolados, foi realizado gel de eletroforese na concentração de 1% e 80 V em tampão TBE (Tris-[Hidroximetil] Aminometano + Ácido Bórico + Ácido etilenodiamino tetraacético) corados com corante safer, e posteriormente submetidos a avaliação de qualidade por visualização em software computacional L-Pix Image integrado a fotodocumentador Loccus.

Foram consideradas bandas de qualidade aquelas que apresentaram boa resolução e intensidade, estas foram classificadas como aptas para PCR (reação da cadeia da polimerase).

3.2. Amplificação e sequenciamento das regiões genômicas

As reações de PCR foram realizadas utilizando protocolos específicos para as regiões ITS (espaçador interno transcrito, ITS1/ITS2) e LSU (subunidade maior do RNA ribossomal D1/D2). Cada reação foi preparada em um volume final de 50 µL, contendo: 5 µL de tampão de reação, 2 µL de dNTPs

(1,6 mM) com proporção de 0,4 mM para cada base (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 5 µL de primers específicos, 8,4 µL de glicerol a 30%, 2,6 µL de dimetilsulfóxido (DMSO), 2,4 µL de cloreto de magnésio, 1 µL de enzima Taq polimerase e 15,6 µL de água livre de DNase e RNase. As reações foram realizadas em microtubos de polipropileno de 0,5 mL isentos de DNase e RNase.

Os primers utilizados foram ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGCR) (White et al., 1990) para a região ITS; LR5 (TCCTGAGGGAAACTTCG) e LR0 (ACCCGCTGAACTTAAGC) (Vilgalys e Hester, 1990) para a região LSU.

Os parâmetros do termociclador foram ajustados conforme a região alvo: (1) Para a região ITS: desnaturação inicial a 95 °C por 3 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturação a 95 °C por 50 segundos, anelamento a 53 °C por 45 segundos e extensão a 72 °C por 1 minuto, com extensão final a 72 °C por 5 minutos; (2) Para a região LSU: desnaturação inicial a 95 °C por 3 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturação a 95 °C por 50 segundos, anelamento a 52 °C por 45 segundos e extensão a 72 °C por 1 minuto, com extensão final a 72 °C por 5 minutos.

Os produtos amplificados foram verificados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão TBE, utilizando corante Safer para visualização. A corrida foi realizada a 80 V. As amostras foram consideradas aptas para purificação quando apresentaram bandas nítidas e tamanhos esperados: 500 a 800 pb para a região ITS (White et al., 1990), aproximadamente 1000 pb para LSU (Vilgalys e Hester, 1990).

A purificação dos amplicons foi realizada com o kit Cellco® PCR Purification Kit, utilizando o protocolo indicado para fragmentos entre 200 pb e 5 kb. Após a purificação, a integridade foi avaliada em gel de agarose a 1,5% sob as mesmas condições descritas anteriormente. A quantificação dos

amplicons foi realizada com o espectrofotômetro NanoDrop™ (Thermo Scientific™), adotando como critérios de qualidade uma razão A260/A280 entre 1,8 e 2,0, além de espectro de absorbância suave e sem picos irregulares.

As amostras aptas foram enviadas para as empresas ACTGene Análises Moleculares Ltda (Alvorada, RS, Brasil) e GoGenetic (Curitiba, PR, Brasil), onde foi realizado o sequenciamento Sanger das regiões ITS, LSU e MCM7.

3.4. Análises de bioinformática

As sequências resultantes foram editadas e alinhadas utilizando o software computacional BioEdit v.7.2.5 (HALL, 1999), em seguida foram comparadas com sequências de referência no banco de dados GenBank (Benson et al., 2013) utilizando a ferramenta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (Altschul et al., 1990) do NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Para a reconstrução da relação filogenética entre as espécies dos isolados provenientes de plantas com anomalia, foi realizada uma análise filogenética utilizando o método de Máxima Verossimilhança (ML) implementado no W-IQ-TREE (Trifinopoulos et al., 2016), com 10000 replicatas de bootstrap para avaliação da confiabilidade das árvores filogenéticas. A construção das árvores foi realizada por meio da plataforma iTOL V6 (Letunic et al., 2024).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Resultados do sequenciamento e análise BLAST da região do espaçador interno transcrito

Os resultados do sequenciamento e comparação BLAST dos isolados obtidos a partir de partes vegetais de plantas de soja com sintomas aparentes de anomalias de apodrecimento de vagens, quando comparados com sequências depositadas no GenBank como Materiais Tipo, revelaram uma grande diversidade de espécies fúngicas (Tabela 2).

Tabela 2. Identificação dos isolados, e-valor, percentual de identificação e acesso a isolados material tipo com maiores similaridades via BLAST no NCBI.

Isolado	Scientific Name	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
01-0223	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	100%	0,0	90.66%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	96%	0,0	85.97%	MT162718.1
	<i>Marasmius obscuroaurantiacus</i>	83%	7×10^{-161}	88.18%	MZ145165.1
08-0223	<i>Xylaria ellisii</i>	44%	0,0	90.85%	NR_172972.1
	<i>Xylaria subtropicalis</i>	41%	0,0	90.88%	MG013556.1
	<i>Xylaria apiospora</i>	41%	0,0	90.71%	MT572916.1
11-0223	<i>Corynespora submersa</i>	100%	0,0	96.14%	MN860548.1
	<i>Corynespora submersa</i>	100%	0,0	96.14%	NR_170017.1
	<i>Corynespora torulosa</i>	100%	0,0	96.12%	MH866095.1
11-0324	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	100%	0,0	91.47%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	82%	9×10^{-164}	92.58%	MT162718.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	78%	2×10^{-145}	90.95%	MN930529.1
12-0223	<i>Gymnopus dryophilus</i>	18%	5×10^{-50}	83.93%	MW816514.1
	<i>Leotia lubrica</i>	15%	2×10^{-49}	87.17%	MW488330.1
	<i>Ganoderma boninense</i>	14%	7×10^{-49}	88.44%	OR140593.1
	<i>Agroathelia delphinii</i>	14%	2×10^{-48}	87.36%	JN241551.1
15-1023	<i>Gelasinospora saitoi</i>	100%	0,0	99.18%	NR_155109.1
	<i>Neurospora dictyophora</i>	100%	0,0	98.90%	MH862539.1
	<i>Neurospora tetraspora</i>	100%	0,0	98.90%	NR_077163.1
18-0223	<i>Moniliophthora purpurensis</i>	100%	5×10^{-54}	74.41%	OR387293.1
	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	56%	6×10^{-53}	78.92%	MZ766451.1

	<i>Moniliophthora capitata</i>	56%	6×10^{-53}	78.92%	OR387288.1
43-0424	<i>Moniliophthora purpurens</i>	98%	0,0	91.70%	OR387293.1
	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	98%	0,0	90.84%	MZ766451.1
	<i>Amyloflagellula verrucosa</i>	68%	1×10^{-135}	90.26%	MH861439.1
	<i>Amyloflagellula verrucosa</i>	68%	1×10^{-135}	90.26%	NR_175096.1
45-1023	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	89%	0,0	87.95%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	90%	0,0	84.52%	MT162718.1
	<i>Marasmius obsкуроaurantiacus</i>	82%	5×10^{-148}	85.20%	MZ145165.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	52%	1×10^{-144}	91.07%	MN930529.1
56-0524	<i>Marasmius pusilliformis</i>	72%	8×10^{-152}	87.40%	KY290232.1
	<i>Crinipellis furcata</i>	55%	3×10^{-131}	90.54%	FJ167658.1
	<i>Metacampanella coprophila</i>	58%	3×10^{-121}	87.72%	PP973102.1
	<i>Marasmius madagascariensis</i>	74%	1×10^{-154}	87.35%	NR_158834.1
126-1-0123	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	87%	0,0	93.91%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	85%	8×10^{-175}	89.34%	MT162718.1
	<i>Marasmius obsкуроaurantiacus</i>	82%	4×10^{-148}	87.12%	MZ145165.1
	<i>Marasmius tangerinus</i>	81%	6×10^{-146}	87.04%	MZ452087.1
126-3-0123	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	97%	0,0	89.51%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	94%	4×10^{-173}	84.52%	MT162718.1
	<i>Marasmius obsкуроaurantiacus</i>	81%	7×10^{-146}	86.49%	MZ145165.1
	<i>Crinipellis mezzanensis</i>	73%	1×10^{-143}	85.94%	KP347691.1
126-4-0123	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	73%	0,0	89.27%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	66%	0,0	86.77%	MT162718.1
	<i>Marasmius obsкуроaurantiacus</i>	54%	5×10^{-159}	87.98%	MZ145165.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	55%	2×10^{-158}	87.75%	MN930529.1
127-1-0123	<i>Diaporthe passifloricola</i>	95%	0,0	96.96%	NR_147595.1
	<i>Diaporthe miriciae</i>	96%	0,0	96.12%	NR_147535.1
	<i>Diaporthe miriciae</i>	96%	0,0	96.12%	KJ197282.1
	<i>Diaporthe guangdongensis</i>	99%	0,0	95.03%	NR_173302.1
127-2-0123	<i>Corynespora torulosa</i>	99%	0,0	95.73%	NR_145181.1
	<i>Corynespora thailandica</i>	97%	0,0	95.09%	NR_161145.1
	<i>Corynespora torulosa</i>	92%	0,0	95.19%	MH866095.1
130-1-0123	<i>Colletotrichum reniforme</i>	85%	0,0	100.00%	MZ595847.1
	<i>Colletotrichum plurivorum</i>	92%	0,0	99.81%	NR_160828.1
	<i>Colletotrichum cliviicola</i>	92%	0,0	99.63%	NR_137097.1
	<i>Colletotrichum sojae</i>	94%	0,0	99.45%	KC110794.1
130-2-0123A	<i>Colletotrichum jasminigenum</i>	100%	0,0	100.00%	NR_144789.1
	<i>Colletotrichum truncatum</i>	100%	0,0	99.76%	NR_111458.1

	<i>Colletotrichum aciculare</i>	100%	0,0	99.76%	NR_138009.1
	<i>Colletotrichum curcumae</i>	99%	0,0	98.79%	NR_111459.1
130-2-0123C	<i>Colletotrichum aciculare</i>	90%	0,0	99.81%	NR_138009.1
	<i>Colletotrichum truncatum</i>	90%	0,0	99.81%	NR_111458.1
	<i>Colletotrichum jasminigenum</i>	98%	0,0	99.65%	NR_144789.1
	<i>Colletotrichum curcumae</i>	90%	0,0	97.90%	NR_111459.1
130-0123	<i>Colletotrichum reniforme</i>	85%	0,0	100.00%	MZ595847.1
	<i>Colletotrichum plurivorum</i>	92%	0,0	99.81%	NR_160828.1
	<i>Colletotrichum cliviicola</i>	92%	0,0	99.63%	NR_137097.1
	<i>Colletotrichum sojae</i>	94%	0,0	99.45%	KC110794.1
135-0123	<i>Colletotrichum reniforme</i>	83%	0,0	100.00%	MZ595847.1
	<i>Colletotrichum plurivorum</i>	92%	0,0	99.07%	NR_160828.1
	<i>Colletotrichum cliviicola</i>	92%	0,0	98.89%	NR_137097.1
	<i>Colletotrichum sojae</i>	94%	0,0	98.72%	KC110794.1
136-0123	<i>Colletotrichum syngoniicola</i>	97%	0,0	98.24%	MZ595863.1
	<i>Colletotrichum sojae</i>	94%	0,0	98.91%	KC110794.1
	<i>Colletotrichum plurivorum</i>	92%	0,0	99.26%	NR_160828.1
	<i>Colletotrichum cliviicola</i>	92%	0,0	99.07%	NR_137097.1
137-0123	<i>Diaporthe ueckeri</i>	97%	0,0	99.46%	NR_147543.1
	<i>Diaporthe miriciae</i>	98%	0,0	99.28%	KJ197282.1
	<i>Diaporthe miriciae</i>	98%	0,0	99.28%	NR_147535.1
	<i>Diaporthe rosae</i>	97%	0,0	98.37%	NR_172401.1
139-0123	<i>Fusarium multiceps</i>	84%	0,0	99.80%	GQ505755.1
	<i>Fusarium duofalcatisporum</i>	84%	0,0	99.41%	GQ505741.1
	<i>Fusarium compactum</i>	84%	0,0	99.41%	GQ505737.1
	<i>Fusarium luffae</i>	80%	0,0	99.80%	NR_164594.1
140-0123	<i>Roseograndinia minispora</i>	86%	0,0	97.83%	MZ637078.1
	<i>Roseograndinia jilinensis</i>	94%	0,0	95.94%	MZ637077.1
	<i>Hyphodermella aurantiaca</i>	93%	0,0	95.15%	MW209023.1
	<i>Hyphodermella pallidostraminea</i>	94%	0,0	92.51%	OK138912.1
141-0123	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	97%	0,0	89.21%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	82%	8×10^{-155}	88.41%	MT162718.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	81%	2×10^{-131}	85.96%	MN930529.1
	<i>Marasmius obscuroaurantiacus</i>	81%	6×10^{-131}	85.93%	MZ145165.1
142-0123	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	39%	0,0	95.18%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	39%	0,0	90.41%	MT162718.1
	<i>Marasmius obscuroaurantiacus</i>	39%	1×10^{-161}	88.35%	MZ145165.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	39%	2×10^{-158}	87.72%	MN930529.1

147-0123	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	41%	0,0	89.50%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	36%	3×10^{-142}	87.13%	MT162718.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	32%	2×10^{-134}	88.89%	MN930529.1
149-0123	<i>Fusarium multiceps</i>	99%	0,0	98.91%	GQ505755.1
	<i>Fusarium coffeatum</i>	99%	0,0	98.72%	AY213655.1
	<i>Fusarium duofalcatisporum</i>	99%	0,0	98.54%	GQ505741.1
	<i>Fusarium compactum</i>	99%	0,0	98.54%	GQ505737.1
149-1023	<i>Fusarium multiceps</i>	99%	0,0	98.54%	GQ505755.1
	<i>Fusarium coffeatum</i>	98%	0,0	98.35%	AY213655.1
	<i>Fusarium duofalcatisporum</i>	99%	0,0	98.18%	GQ505741.1
	<i>Fusarium compactum</i>	99%	0,0	98.18%	GQ505737.1
150-0123	<i>Fusarium coffeatum</i>	98%	0,0	98.91%	AY213655.1
	<i>Fusarium duofalcatisporum</i>	99%	0,0	98.72%	GQ505741.1
	<i>Fusarium compactum</i>	99%	0,0	98.72%	GQ505737.1
	<i>Fusarium multiceps</i>	99%	0,0	98.72%	GQ505755.1
150-1023	<i>Fusarium coffeatum</i>	98%	0,0	98.90%	AY213655.1
	<i>Fusarium duofalcatisporum</i>	98%	0,0	98.72%	GQ505741.1
	<i>Fusarium compactum</i>	98%	0,0	98.72%	GQ505737.1
	<i>Fusarium multiceps</i>	98%	0,0	98.72%	GQ505755.1
C-02-1023	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	88%	0.0	89.26%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	84%	0.0	86.49%	MT162718.1
	<i>Marasmius obscuroaurantiacus</i>	70%	8×10^{-171}	87.48%	MZ145165.1
	<i>Marasmius tangerinus</i>	70%	4×10^{-164}	86.59%	MZ452087.1
C-04-1023	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	87%	0,0	89.71%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	84%	0,0	85.89%	MT162718.1
	<i>Marasmius obscuroaurantiacus</i>	70%	3×10^{-165}	86.86%	MZ145165.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	64%	1×10^{-158}	87.72%	MN930529.1
C-05-1023	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	67%	0,0	89.85%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	66%	2×10^{-146}	85.77%	MT162718.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	55%	2×10^{-131}	87.44%	MN930529.1
	<i>Marasmius ypyrangensis</i>	59%	2×10^{-126}	85.38%	MN714063.1
C-08-1223	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	100%	0,0	90.81%	MZ766451.1
	<i>Moniliophthora mayarum</i>	98%	0,0	86.94%	MT162718.1
	<i>Marasmius obscuroaurantiacus</i>	79%	4×10^{-158}	87.93%	MZ145165.1
	<i>Marasmius neocrinis-equi</i>	80%	7×10^{-156}	87.50%	MN930529.1
C-34-1023	<i>Moniliophthora capitata</i>	83%	0,0	94.67%	OR387288.1
	<i>Moniliophthora purpurensis</i>	99%	0,0	91.76%	OR387293.1
	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	99%	0,0	91.34%	MZ766451.1

	<i>Crinipellis furcata</i>	58%	1×10^{-129}	90.24%	FJ167658.1
C-36-1023	<i>Moniliophthora capitata</i>	83%	0,0	94.86%	OR387288.1
	<i>Moniliophthora purpurens</i>	100%	0,0	91.94%	OR387293.1
	<i>Moniliophthora pakistanica</i>	100%	0,0	91.37%	MZ766451.1

Através da comparação Blast dos isolados sequenciados, foi possível observar a diversidade de espécies de fungos identificados, sendo frequentes *Moniliophthora* sp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Corynespora* sp. e *Diaporthe/Phomopsis* sp.

O gênero *Moniliophthora* foi detectado em 17 isolados (01-0223, 11-0324, 18-0223, 43-0424, 45-1023, 126-1-0123, 126-3-0123, 126-4-0123, 141-0123, 142-0123, 147-0123, C-02-1023, C-04-1023, C-05-1023, C-08-1223, C-34-1023, C-36-1023), com percentuais de identidade de 74,41% a 95,18% e E-valores entre 0,0 e 6×10^{-53} . A detecção recorrente deste gênero em plantas sintomáticas indica uma forte associação com a manifestação de apodrecimento de vagens, sugerindo que o gênero é um potencial agente patogênico associado a anomalia de soja.

O gênero *Fusarium* foi identificado em cinco isolados (139-0123, 149-0123, 149-1023, 150-0123, 150-1023), com percentuais de identidade variando de 98% a 99,80% e cobertura de consulta elevados. Todos os isolados apresentaram E-valores iguais a 0,0, reforçando a confiabilidade dos alinhamentos BLAST com base na ausência de resultados aleatórios. A identificação de várias espécies sugere que patógenos do gênero *Fusarium* podem estar fortemente associados com as anomalias observadas.

O gênero *Colletotrichum* foi identificado em seis isolados (130-1-0123, 130-2-0123A, 130-2-0123C, 130-0123, 135-0123, 136-0123), com percentuais de identidade entre 97,90% e 100% e valores de query cover superiores a 85%. O E-value foi 0,0 em todos os casos, reforçando a confiabilidade do alinhamento BLAST.

O complexo *Diaporthe/Phomopsis* foi identificado nos isolados 127-1-0123 e 137-0123, com identidades variando de 99,46% a 95,03% e valores de

query cover superiores a 95%. Todos os alinhamentos apresentaram E-valores de 0,0, reforçando a confiabilidade dos resultados.

Os autores Nascimento et al. (2024) reportaram por meio de nota científica a ocorrência de *Diaphorthe ueckeri* e *Diaphorthe longicolla* como agente causal da podridão de grãos e vagem, relacionadas pelos autores como agentes causais da “anomalia da soja”.

4.5. Análises filogenéticas

A identificação do modelo evolutivo mais adequado para a análise de sequências da região ITS dos isolados foram realizados utilizando IQ-TREE Web server, através do algoritmo ModelFinder para comparação de diversos modelos de substituição de nucleotídeos. A análise incluiu 88 modelos, abrangendo uma ampla gama de parametrizações para captar características evolutivas da região ITS.

Os modelos evolutivos foram avaliados com base nos critérios de seleção AIC (Critério de Informação de Akaike), AICc (Critério de Informação de Akaike corrigido) e BIC (Critério de Informação Bayesiana), calculados a partir dos valores de -LnL (Logaritmo Negativo da Verossimilhança) (Tabela 5).

Os modelos testados variaram em termos de complexidade, incorporando fatores como proporção de nucleotídeos invariantes (I), distribuição de taxas por sítio (G4) e frequências de base otimizadas (F).

As taxas de substituição específicas para o modelo TIM2e+G4 foram otimizadas como: $A \leftrightarrow C = 1.30395$, $A \leftrightarrow G = 2.01223$, $A \leftrightarrow T = 1.30395$, $C \leftrightarrow G = 1.00000$, $C \leftrightarrow T = 3.10908$ e $G \leftrightarrow T = 1.00000$. Além disso, as frequências de base foram equilibradas ($A = 25\%$, $C = 25\%$, $G = 25\%$, $T = 25\%$), e a forma da distribuição gama (α) foi estimada em 1,012.

A análise foi conduzida sob o princípio de máxima verossimilhança, utilizando 10.000 replicatas de bootstrap ultrarrápido (UFBoot) para avaliar a confiabilidade das ramificações filogenéticas.

Tabela 3. Comparação de Modelos Evolutivos para a Análise Filogenética da Região ITS

Modelo	-LnL	AIC	AICc	BIC
TIM2e+G4	-7.520.695	15.247.391	15.275.433	15.738.308
TIM3+F+I+G4	-7.521.185	15.256.370	15.286.781	15.766.353
GTR+F+I+G4	-7.517.910	15.253.820	15.285.456	15.773.335
K3P+I+G4	-7.534.677	15.275.354	15.303.395	15.766.271
HKY+F+I+G4	-7.528.378	15.266.755	15.295.968	15.767.205

-LnL: Logaritmo negativo de verossimilhança; AIC: Critério de Informação de Akaike; AICc: Critério de Informação de Akaike corrigido; BIC: Critério de Informação Bayesiana.

O modelo TIM2e+G4 apresentou o menor valor de BIC (15738.308), sendo selecionado como o mais adequado para as análises filogenéticas devido ao seu equilíbrio entre ajuste aos dados e complexidade do modelo, conforme indicado pelos critérios de seleção aplicados.

Baseado neste modelo, foi construído um dendograma que ilustra as relações evolutivas entre os isolados analisados que destaca agrupamentos bem definidos e reforça a identificação molecular das espécies, evidenciando as conexões filogenéticas de maneira clara.

O suporte estatístico das ramificações, avaliado por meio de valores de bootstrap assegura a confiabilidade das relações evolutivas apresentadas (Figura 2).

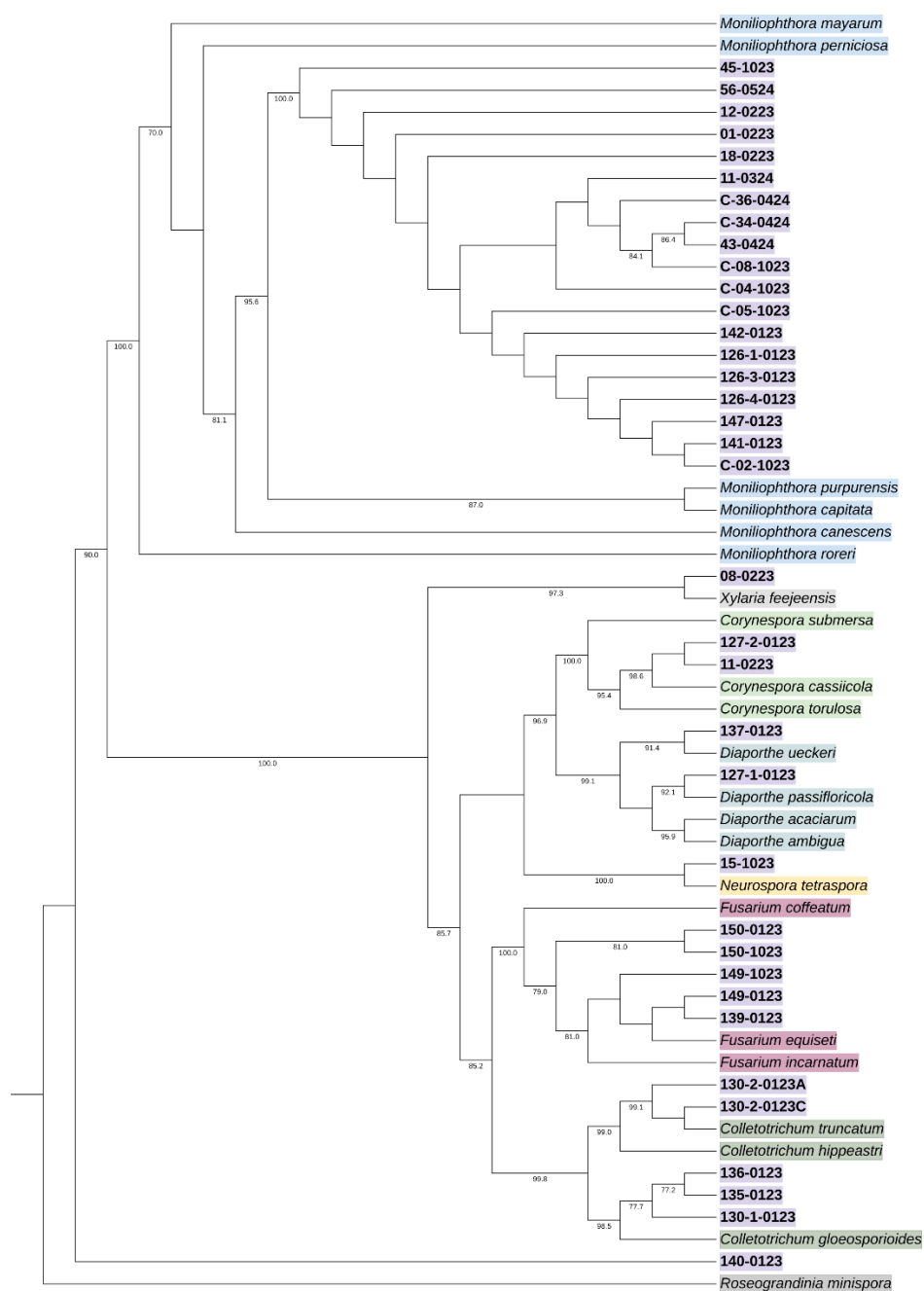


Figura 2 – Dendrograma representando as relações filogenéticas entre espécies do gênero *Moniliophthora* baseado em análise de sequências de DNA genômico da região ITS e valores de bootstrap nos ramos.

O grupo relacionado a *Colletotrichum gloeosporioides* incluiu os isolados 130-1-0123, 135-0123 e 136-0123, que apresentaram valores de bootstrap de 98,5%, evidenciando uma forte relação filogenética com essa espécie. Esses isolados são frequentemente associados a doenças foliares na

soja, como a antracnose, reforçando sua relevância no contexto agrícola do Mato Grosso. A proximidade genética entre os isolados e *Colletotrichum gloeosporioides* sugere que podem pertencer a variantes intraespecíficas dessa espécie.

O grupo relacionado a *Colletotrichum truncatum* foi composto pelos isolados 130-2-0123C e 130-2-0123A, com valores de bootstrap de 99,1%, indicando alta confiabilidade na sua associação com essa espécie.

Os grupos associados ao gênero *Fusarium* mostraram uma diversidade notável. O agrupamento relacionado a *Fusarium equiseti* incluiu os isolados 139-0123 e 149-0123, ambos com suporte bootstrap de 81%. Os isolados 150-1023 e 150-0123 foram agrupados próximos a *Fusarium coffeatum*, com suporte de 81%.

Os isolados associados ao gênero *Diaporthe* também se destacaram no dendograma. O isolado 127-1-0123 foi agrupado com *D. passifloricola* (92,1% de bootstrap), enquanto o isolado 137-0123 ficou próximo a *D. ueckeri* (91,4%).

O isolado 15-1023 foi agrupado com *Neurospora tetraspora*, formando um clado com suporte filogenético de 100%. Esse agrupamento evidencia a proximidade genética entre o isolado e a espécie tipo, sugerindo uma relação filogenética consistente dentro do gênero *Neurospora*.

Para o gênero *Corynespora*, observou-se o isolado 127-2-0123 e 11-0223 que foi associado a *Corynespora cassiicola*, com suporte de 98,6.

O gênero *Xylaria* foi representado por *Xylaria feejeensis* e o isolado 08-0223, que apresentaram um agrupamento bem definido com suporte de 97,3%. Esse resultado destaca a importância de *Xylaria* como potencial fungo associado a anomalia, embora menos estudado no contexto da soja.

Os isolados 18-0223, 12-0223, 01-0223, 11-0324, C-36-0424, 45-1023, 56-0524, C-34-0424, 43-0424, C-08-1023, C-04-1023, C-05-1023, 126-1-0123, 142-0123, 147-0123, 141-0123, 126-4-0123, 126-3-0123 e C-02-1023 foram

agrupados, com sequências tipo de espécies pertencentes ao gênero *Moniliophthora*, incluindo *M. mayarum*, *M. perniciosa*, *M. canescens*, *M. capitata* e *M. purpurensis*.

Esse agrupamento evidencia a proximidade genética entre os isolados e as espécies do gênero, com base na análise da região ITS, reforçada por altos valores de suporte filogenético.

Tabela 4. Comparação de Modelos Evolutivos para a Análise Filogenética da Região LSU

Modelo	-LnL	AIC	AICc	BIC
TIM+F+G4	-4.819.998	9.879.995	9.913.645	10.466.991
TIM+F+I+G4	-4.819.830	9.881.660	9.915.910	10.473.547
GTR+F+I+G4	-4.819.648	9.885.296	9.920.766	10.486.966
K2P+I+G4	-4.854.351	9.940.702	9.972.010	10.508.130
HKY+F+I+G4	-4.862.966	9.963.932	9.996.987	10.546.035

-LnL: Logaritmo negativo de verossimilhança; AIC: Critério de Informação de Akaike; AICc: Critério de Informação de Akaike corrigido; BIC: Critério de Informação Bayesiana.

O modelo TIM+F+G4 apresentou o menor valor de BIC (10466.991), sendo selecionado como o mais adequado para as análises filogenéticas devido ao seu equilíbrio entre ajuste aos dados e complexidade do modelo, conforme indicado pelos critérios de seleção aplicados.

Baseado neste modelo, foi construído um dendrograma que ilustra as relações evolutivas entre os isolados analisados, destacando agrupamentos bem definidos e reforçando a identificação molecular das espécies. Esse dendrograma evidencia conexões filogenéticas de maneira clara, permitindo uma melhor interpretação das relações evolutivas entre os isolados.

O suporte estatístico das ramificações foi avaliado por meio de valores de bootstrap, garantindo confiabilidade nas relações filogenéticas apresentadas (Figura 3).

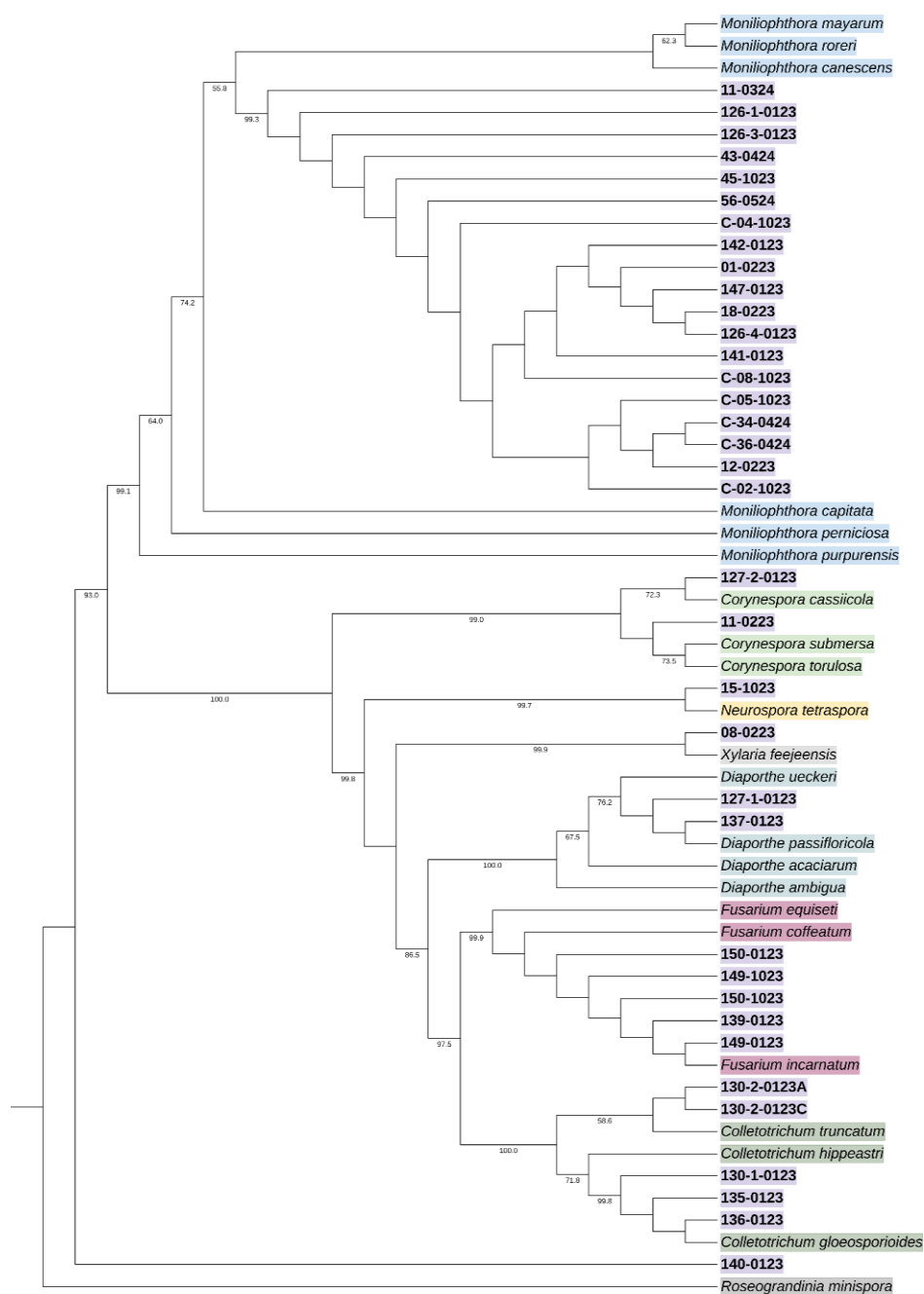


Figura 3 – Dendrograma representando as relações filogenéticas entre espécies do gênero *Moniliophthora* baseado em análise de sequências de DNA genômico da região LSU e valores de bootstrap nos ramos.

O grupo relacionado a *C. gloeosporioides* incluiu os isolados 136-0123, 135-0123 e 130-1-0123, que apresentaram valores de bootstrap de 99,8%, evidenciando uma forte relação filogenética com essa espécie.

O grupo relacionado a *Colletotrichum truncatum* foi composto pelos isolados 130-2-0123C e 130-2-0123A, com valores de bootstrap de 58,6%, indicando uma relação menos robusta em comparação com a análise ITS.

Os isolados 149-0123, 139-0123, 150-1023, 149-1023 e 150-0123 foram agrupados ao gênero *Fusarium* na análise filogenética, com alta identidade (99,9%), reforçando sua classificação nesse grupo. Esse resultado demonstra a maior precisão da inferência filogenética em comparação ao dendrograma baseado exclusivamente na região ITS (Figura 3).

Os isolados associados ao gênero *Diaporthe* também apresentaram agrupamentos bem definidos.

O isolado 137-0123 foi agrupado com *D. passifloricola* (76,2% de bootstrap). O isolado 127-0123 foi associado ao gênero, estando próximo a *D. ueckeri*.

Os resultados obtidos para os gêneros *Neurospora* e *Xylaria* demonstraram uma forte concordância entre as análises filogenéticas das regiões ITS e LSU.

Neurospora tetraspora foi consistentemente agrupada com o isolado 15-1023, formando um clado altamente sustentado (99,7% de bootstrap) em ambas as regiões, reforçando a confiabilidade da identificação molecular desse isolado. *Xylaria feejeensis* manteve sua associação com o isolado 08-0223, apresentando um agrupamento bem definido com suporte de 99,9%.

Essa concordância entre os dendrogramas das duas regiões confirma a robustez das relações filogenéticas estabelecidas para esses isolados.

O gênero *Corynespora* apresentou agrupamentos distintos. O Isolado 11-0223 foi agrupado com as sequências tipo das espécies *Corynespora torulosa* e *Corynespora submersa* com suporte de 73,5%. O isolado 127-2-0123 foi associado a *C. cassicola* (72,3%).

Em ambas as regiões, os isolados C-02-1023, C-04-1023, C-08-1023, C-36-0424, 18-0223, 12-0223, 01-0223, 11-0324, 56-0524, 45-1023, 43-0424, C-34-0424, 126-1-0123, 126-3-0123, 126-4-0123, 142-0123, 141-0123, 147-0123 e C-05-1023 foram agrupados com espécies do gênero *Moniliophthora*, reforçando a consistência desses isolados como pertencentes ao grupo.

A identificação do modelo evolutivo mais adequado para a análise filogenética da matriz concatenada (ITS + LSU) foi realizada através do algoritmo ModelFinder, que designou o modelo TNe+G4 pelo menor valor de BIC, equilibrando ajuste aos dados e complexidade, garantindo uma reconstrução filogenética robusta.

Os modelos foram avaliados nos mesmos critérios avaliados anteriormente calculados a partir dos valores de (Tabela 5).

Tabela 5. Comparação de Modelos Evolutivos para a Análise Filogenética da Matriz Concatenada (ITS + LSU)

Modelo	-LnL	AIC	AICc	BIC
TNe+G4	-12.887.148	26.006.295	26.021.940	26.647.082
GTR+F+G4	-12.873.063	25.990.126	26.007.484	26.664.057
TIM3+F+G4	-12.882.774	26.005.548	26.022.325	26.668.431
TIM2+F+G4	-12.876.503	25.993.007	26.009.783	26.655.889
TVM+F+G4	-12.918.711	26.079.422	26.096.488	26.747.829

-LnL: Logaritmo negativo de verossimilhança; AIC: Critério de Informação de Akaike; AICc: Critério de Informação de Akaike corrigido; BIC: Critério de Informação Bayesiana.

As taxas de substituição específicas para o modelo TNe+G4, selecionado como o mais adequado, foram otimizadas para: $A \leftrightarrow C = 1,00000$, $A \leftrightarrow G = 1,82975$, $A \leftrightarrow T = 1,00000$, $C \leftrightarrow G = 1,00000$, $C \leftrightarrow T = 3,34285$ e $G \leftrightarrow T = 1,00000$.

As frequências de base foram equilibradas ($A = 25\%$, $C = 25\%$, $G = 25\%$, $T = 25\%$), e a forma da distribuição gama (α) foi estimada em 0,505.

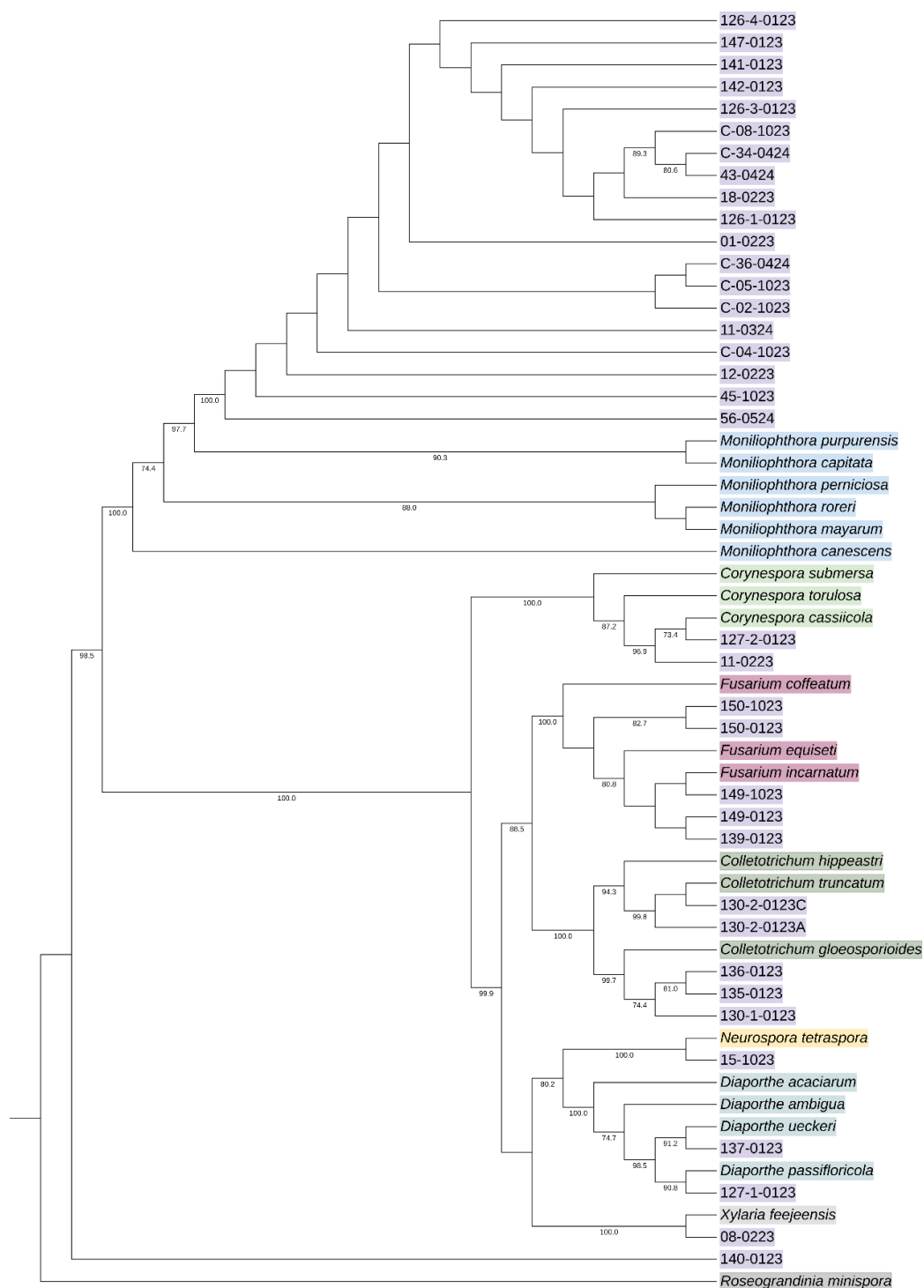


Figura 4 – Dendrograma baseado na análise concatenada das sequências das regiões ITS (Internal Transcribed Spacer) e LSU (Large Subunit) do RNA ribossômico, gerado utilizando o método de Máxima Verossimilhança (ML) com 10.000 replicatas de bootstrap.

Os resultados confirmaram os agrupamentos observados nas análises individuais das regiões ITS e LSU, reforçando a consistência das relações filogenéticas entre os isolados. O gênero *Moniliophthora* permaneceu como um clado bem sustentado, com os isolados C-02-1023, C-04-1023, C-08-1023, C-36-0424, 18-0223, 12-0223, 01-0223, 11-0324, 56-0524, 45-1023, 43-0424, C-34-0424, 126-1-0123, 126-3-0123, 126-4-0123, 142-0123, 141-0123, 147-0123 e C-05-1023, agrupados com *M. mayarum*, *M. perniciosa*, *M. canescens*, *M. capitata* e *M. purpurensis*.

O gênero *Colletotrichum* apresentou clados bem definidos, onde os isolados 136-0123 e 135-0123 foram identificados como próximos a *C. gloeosporioides* (bootstrap de 99,8%), e os isolados 130-2-0123C e 130-2-0123A foram associados a *C. truncatum* (bootstrap de 43,7%), evidenciando um suporte menor para essa relação.

O gênero *Fusarium* manteve a estrutura filogenética observada nas análises individuais, com os isolados 139-0123 e 149-0123 agrupados com *F. equiseti* (bootstrap de 56,9%), e 150-1023 e 150-0123 próximos a *F. coffeatum* (bootstrap de 35,6%).

Os isolados pertencentes ao gênero *Diaporthe* também foram bem agrupados, com 127-1-0123 associado a *D. passifloricola* (bootstrap de 90,8%) e 137-0123 próximo a *D. ueckeri* (bootstrap de 91,2%).

Os gêneros *Neurospora* e *Xylaria* apresentaram altos valores de suporte bootstrap, indicando concordância entre as análises individuais e a matriz concatenada. *Neurospora tetraspora* permaneceu agrupada com o isolado 15-1023, formando um clado fortemente sustentado, enquanto *Xylaria feejeensis* foi associada ao isolado 08-0223, com 99,9% de suporte filogenético.

O gênero *Neurospora* é amplamente distribuído, ocorrendo em regiões tropicais e temperadas, apresenta notável plasticidade fenotípica, podendo atuar como saprófito, endófito ou patógeno dependendo das condições ambientais (Hsiao-Che et al., 2014; Gladieux et al., 2020).

Embora não haja relatos oficiais de sua patogenicidade na cultura da soja, espécies pertencentes ao gênero demonstram capacidade endofítica em *Pinus sylvestris* e, sob condições específicas, torna-se patogênico, infectando raízes e causando necroses em mudas (Hsiao-Che et al., 2014; Gladieux et al., 2020). Além disso possui aplicações biotecnológicas na produção de enzimas para degradação de lignocelulose, compostos bioativos e na alimentação (Zhou et al., 2019; Seibert et al., 2016; Rehman et al., 2008).

As ocorrências de fungos da família *Xylariaceae* no Brasil estão documentadas em cultivos de cacau na Bahia, onde foram reportadas seis novas espécies. Entretanto, não foram avaliados efeitos patogênicos, pelo seu comportamento sapróbio. Embora a maioria das espécies de *Xylariaceae* atue como decompositoras ou endofíticas, algumas podem apresentar potencial patogênico (Silva et al., 2020).

Até o momento, não há registros da ocorrência do gênero *Xylaria* sp. na cultura da soja no Brasil. No entanto, no sul dos Estados Unidos, espécies desse gênero têm sido associadas à doença *Taproot Decline* (TRD), ou declínio da raiz principal. O patógeno coloniza o sistema radicular da soja, causando necrose na raiz principal e no colo da planta, comprometendo a absorção de água e nutrientes, o que pode resultar em redução do vigor e da produtividade da cultura (Solórzano et al., 2023; Popescu et al., 2022).

Para o gênero *Corynespora*, os isolados 127-2-0123 e 11-0223 foram associados a *C. cassicola*, mas com um suporte menor do que o obtido na análise individual da região ITS.

Os isolados 11-0223 e 127-2-0123 foram agrupados na análise filogenética junto a *Corynespora* sp., indicando maior proximidade genética com esse gênero.

O isolado 12-0223 apresentou inconsistências entre as análises BLAST e filogenética. No BLAST, a região ITS indicou alta identidade (83,93% a 88,44%) com *Gymnopus dryophilus*, *Leotia lubrica*, *Ganoderma boninense* e

Agroathelia delphinii, porém com baixa cobertura (14% a 18%). No dendrograma, no entanto, o isolado foi agrupado com *Moniliophthora* sp., sugerindo que a região ITS não foi representativa para a identificação devido à ausência de sequências de material tipo depositadas no GenBank ou inadequação da região para este grupo.

Situação semelhante foi observada para o isolado 56-0524, que se agrupou filogeneticamente com *Moniliophthora* sp., enquanto a análise BLAST apresentou divergências na identificação. Esses resultados reforçam a limitação da região ITS para a identificação precisa desses isolados por BLAST.

As divergências entre as análises BLAST e filogenética podem ser atribuídas a baixa representatividade de sequências de referência no GenBank comprometendo a precisão da identificação especialmente em grupos pouco estudados (Schoch et al., 2012). Além disso, a região ITS, embora amplamente utilizada como código de barras molecular para fungos, apresenta limitações na diferenciação de grupos taxonômicos devido à sua alta conservação em determinados gêneros tornando-se insuficiente para separar espécies próximas (Gardes & Bruns, 1993; Schoch et al., 2012).

A busca por similaridade no BLAST pode resultar em altos percentuais de identidade entre sequências de diferentes gêneros devido à presença de regiões conservadas, sem necessariamente refletir proximidade evolutiva real, o que pode levar a identificações errôneas (Vilgalys & Hester, 1990).

Para inferências mais robustas, a análise filogenética mostra-se mais adequada por considerar múltiplas regiões e aplicar modelos estatísticos que refletem relações evolutivas com maior precisão (Kurtzman & Robnett, 1997; Schoch et al., 2012). A combinação de diferentes marcadores genéticos, como ITS e LSU, tem sido eficaz para reduzir ambiguidades na classificação de isolados e melhorar a acurácia da identificação taxonômica, evitando erros decorrentes da dependência exclusiva do BLAST (Vilgalys & Hester, 1990; Schoch et al., 2012).

A concatenação das regiões ITS e LSU para a construção do dendrograma demonstrou ser uma abordagem eficiente na diferenciação dos isolados fúngicos, proporcionando maior resolução filogenética e permitindo um agrupamento mais consistente dos táxons em comparação com análises baseadas em uma única região molecular (Kurtzman & Robnett, 1997; Schoch et al., 2012).

Estudos indicam que o uso de múltiplos marcadores melhora a inferência evolutiva, reduzindo a ambiguidade causada por regiões altamente conservadas ou polimorfismos intragenômicos (Hibbett et al., 2007; Vilgalys & Hester, 1990).

Dessa forma, o dendrograma gerado a partir das sequências concatenadas refletiu melhor as relações filogenéticas entre os isolados, permitindo uma classificação mais precisa e confiável dos possíveis patógenos associados às anomalias da soja.

5. CONCLUSÕES

A identificação molecular dos isolados revelou sua classificação nos gêneros *Moniliophthora* sp., *Corynespora* sp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Neurospora* sp., *Diaporthe* sp. e *Xylaria* sp.

Observou-se que não há registros prévios na literatura sobre a ocorrência de *Moniliophthora* sp. em soja, indicando a necessidade de investigações adicionais para compreender sua possível associação com a cultura.

Da mesma forma, a presença de *Xylaria* sp. no Brasil ainda não havia sido documentada em estudos anteriores, reforçando a importância de análises complementares para elucidar sua distribuição e seu papel ecológico.

6. REFERÊNCIAS

ABEDY, A. N. A.; MUSAWI, B. H. A.; ISAWI, H. I. N. A.; ABDALMOHHSIN, R. G. Morphological and molecular identification of *Cladosporium sphaerospermum* isolates collected from tomato plant residues. *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, v. 82, p. e237428, 2021. DOI: 10.1590/1519-6984.237428.

ALTSCHUL, S. F. et al. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.

AMORIM, L. et al. *Manual de fitopatologia. Volume 2: Doenças das plantas cultivadas*. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 1995.

ANGELOTTI, F.; GHINI, R.; BETTIOL, W. Como o aumento da temperatura interfere nas doenças de plantas? *Aquecimento global e problemas fitossanitários*. p. 116, 2017.

ANGELOTTI, F. et al. Severidade do míldio em cultivares de videira em função do aumento da temperatura do ar. In: *SIMPÓSIO DE MUDANÇAS CLIMÁTICAS E DESERTIFICAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO*, 3., 2011, Juazeiro. *Experiências para mitigação e adaptação*. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011. 1 CD-ROM. (Embrapa Semiárido. Documentos, 239).

ANGELOTTI, F. et al. The effect of temperature, leaf wetness and light on development of grapevine rust. *Australasian Plant Pathology*, v. 43, n. 1, p. 9-13, 2014.

ASEMOLOYE, M. D.; AHMAD, R.; JONATHAN, S. G. Transcriptomic responses of catalase, peroxidase and laccase encoding genes and enzymatic activities of oil spill inhabiting rhizospheric fungal strains. *Environmental Pollution*, v. 235, p. 55–64, 2018. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.12.042.

ASEMOLOYE, M. D. et al. Genome-based engineering of ligninolytic enzymes in fungi. *Microbial Cell Factories*, v. 20, p. 20, 2021. DOI: 10.1186/s12934-021-01510-9.

ASEMOLOYE, M. D. et al. Hydrocarbon degradation and enzyme activities of *Aspergillus oryzae* and *Mucor irregularis* isolated from Nigerian crude oil-polluted sites. *Microorganisms*, v. 8, p. 1912, 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8121912.

ASLAM, S. et al. Recent advances in molecular techniques for the identification of phytopathogenic fungi – a mini review. *Journal of Plant Interactions*, v. 12, n. 1, p. 493-504, 2017.

ASSAD, E. D.; VICTORIA, D. D. C.; CUADRA, S. V.; PUGLIERO, V. S.; ZANETTI, M. R. Efeito das mudanças climáticas na agricultura do Cerrado. In: BOLFE, E. L.; SANO, E. E.; CAMPOS, S. K. (Eds.). *Dinâmica Agrícola no Cerrado: Análises e Projeções*. 1. ed. [S.l.]: [s.n.], 2020.

ASSAD, E. D. et al. Impactos das mudanças climáticas na produção agrícola brasileira. [S.l.]: The World Bank, 2013. Disponível em: <<http://documents.worldbank.org/curated/pt/364151468237586291/Brasil-Impactos-das-Mudan%C3%A7as-Clim%C3%A1ticas-naProdu%C3%A7%C3%A3o-Agr%C3%ADcola-Brasileira>>. Acesso em: 08 set. 2023.

BAILEY, B. A.; EVANS, H. C.; PHILLIPS-MORA, W.; ALI, S. S.; MEINHARDT, L. W. *Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot. *Molecular Plant Pathology*, v. 19, n. 7, p. 1580-1594, 2018.

BARRO, J. P.; NEVES, D. L.; DEL PONTE, E. M.; BRADLEY, C. A. Frog-eye leaf spot caused by *Cercospora sojina*: A review. *Tropical Plant Pathology*, v. 48, n. 4, p. 363-374, 2023.

BATZER, J. C.; MUELLER, D. S. Soybean fungal endophytes *Alternaria* and *Diaporthe* spp. are differentially impacted by fungicide application. *Plant Disease*, v. 104, p. 52-59, 2020. DOI: 10.1094/PDIS-05-19-1001-RE.

BENSON, D. A. et al. GenBank. *Nucleic Acids Research*, v. 41, n. D1, p. D36-D42, 2013. DOI: 10.1093/nar/gks1195.

bioRxiv. 2024.05.10.593147. DOI: 10.1101/2024.05.10.593147.

BOUFLEUR, T. et al. Comparative transcriptomic provides novel insights into the soybean response to *Colletotrichum truncatum* infection. *Frontiers in Plant Science*, v. 13, 2022. DOI: 10.3389/fpls.2022.1046418.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. *Modelagem climática e vulnerabilidades setoriais à mudança do clima no Brasil*. Brasília, DF: [s.n.], 2016. 590 p.

CANAL RURAL. Soja Brasil. Anomalia da soja pode estar relacionada a três fatores. Disponível em: <<https://www.canalrural.com.br/agricultura/soja/anomalia-e-quebramento-da-soja-pode-estar-relacionada-a-tres-questoes/>>. Acesso em: 29 jul. 2024.

CHEN, X. et al. High ambient temperature regulated the plant systemic response to the beneficial endophytic fungus *Serendipita indica*. *Frontiers in Plant Science*, v. 13, 2022. DOI: 10.3389/fpls.2022.844572.

CONAB. *Boletim da Safra de Grãos*. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/43195_4877b01240fee94340214d6c9e37afa>. Acesso em: mai. 2023.

CONAB. *Série histórica das safras*. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-dassafras/itemlist/category/908-graos-por-produtos>>. Acesso em: jul. 2023.

CRUZ, J. D. R. et al. Effects of soil conditions on root rot of soybean caused by *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*, v. 110, p. 1693-1703, 2020. DOI: 10.1094/PHYTO-02-20-0052-R.

DALLA LANA, F. et al. Modelagem meta-analítica do declínio no desempenho de fungicidas no manejo da ferrugem da soja após uma década de uso no Brasil. *Doença Vegetal*, v. 102, p. 807–817, 2018.

DIAO, Y. et al. Genetic differentiation and recombination among geographic populations of the fungal pathogen *Colletotrichum truncatum* from chili peppers in China. *Evolutionary Applications*, v. 8, p. 108-118, 2015. DOI: 10.1111/eva.12233.

DÍAZ-VALDERRAMA, J. R. et al. Diversity in the invasive cacao pathogen *Moniliophthora roreri* is shaped by agriculture. *Plant Pathology*, v. 71, n. 8, p. 1721-1734, 2022.

EMBRAPA. *COMUNICADO sobre apodrecimento de vagens de soja na safra 2020/21*. Embrapa Agrossilvipastoril: Embrapa Soja, 2022. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355202/1529289/Comunicado+sobre+a+podrecimento+de+vagens+de+soja+na+safr+2020-2021/23ba40f1-bab7-561b-c2c1-20b5d9678c58>>. Acesso em: 15 maio 2023.

EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL. *Comunicado sobre apodrecimento de grãos e vagens de soja na safra 2021/2022 na região do médio-norte de Mato Grosso*. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agrossilvipastoril/busca-de-noticias/-noticia/67893519/comunicado-sobre-apodrecimento-de-graos-e-vagens-de-soja-na-safra-20212022-na-regiao-do-medio-norte-de-mato-grosso>>. Acesso em: 08 set. 2023.

EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL. *Estação meteorológica. Dados meteorológicos mensais - Estação Embrapa Agrossilvipastoril.xlsx*. Sinop, 2019. 1 Planilha eletrônica. Disponível em:

<<https://www.embrapa.br/documents/1354377/2455052/Dados+meteorol%C3%B3gicos+mensais/fa06cdc7-d4d5-67f0-9f98-986013ce403c>>. Acesso em: 04 jul. 2024.

EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL. *Rede de instituições faz pesquisa sobre anomalia e quebramento da soja em MT*. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/76917210/rede-de-instituicoes-faz-pesquisa-sobre-anomalia-e-quebramento-da-soja-em-mt>>. Acesso em: 08 set. 2023.

EMBRAPA. *Nova anomalia na cultura da soja: podridão das vagens em sistemas de produção*. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/221024/nova-anomalia-na-cultura-da-soja-podridao-das-vagens-em-sistemas-de-producao>>. Acesso em: 08 set. 2023.

FARIAS NETO, A. L. de et al. *Cultivares de soja e épocas de semeadura para reação à podridão de grãos da soja*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2023. 69 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 409).

FERRAZ, P.; BRANDÃO, R. L.; CÁSSIO, F.; LUCAS, C. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of cacao witches' broom disease is killed in vitro by *Saccharomyces cerevisiae* and *Wickerhamomyces anomalus* yeasts. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, 706675, 2021.

FRANCESCHI, V. T. et al. A new standard area diagram set for assessment of severity of soybean rust improves accuracy of estimates and optimizes resource use. *Plant Pathology*, v. 69, p. 495–505, 2020. DOI: 10.1111/ppa.13148.

GODOY, C. V. et al. Doenças da soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Orgs.). *Manual de fitopatologia: v. 2. Doenças das plantas cultivadas*. 5. ed. São Paulo, SP: Ceres, 2016. p. 657-675.

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M. *Ferrugem-asiática da soja: bases para o manejo da doença e estratégias antirresistência*. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2020. (Embrapa Soja. Documentos, 428).

GODOY, C. V. et al. Ferrugem asiática da soja no Brasil: passado, presente e futuro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 51, p. 407–421, 2016.

GOMES, R. et al. *Diaporthe*: A genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. *Persoonia*, v. 31, p. 1-41, 2013. DOI: 10.3767/003158513X666844.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, v. 41, p. 95-98, 1999.

HARRIS, C. R. et al. Array programming with NumPy. *Nature*, v. 585, p. 357–362, 2020. DOI: 10.1038/s41586-020-2649-2.

IPCC (PAINEL INTERGOVERNAMENTAL SOBRE MUDANÇAS CLIMÁTICAS). *Alterações Climáticas 2013: A Base Científica*. [Título original: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*]. Contribuição dos Grupos de Trabalho I ao Quinto Relatório de Avaliação do IPCC. 2013.

HOLLINGSWORTH, P. M. et al. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 106, n. 31, p. 12794–12797, 2009. DOI: [10.1073/pnas.0905845](https://doi.org/10.1073/pnas.0905845).

HUNTER, J. D. Matplotlib: A 2D Graphics Environment. *Computing in Science & Engineering*, v. 9, n. 3, p. 90-95, 2007.

JORDAN, K. et al. *geopandas/geopandas: v0.8.1 (Version v0.8.1)*. Zenodo, 2020. Disponível em: <[http://doi.org/10.5281/zenodo.3946761](https://doi.org/10.5281/zenodo.3946761)>. Acesso em: 15 jul. 2020.

PETROVIĆ, K. et al. *Plant Disease*, v. 105, n. 6, p. 1621-1629, 2021.

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*, v. 20, n. 4, p. 1160–1166, jul. 2019. DOI: [10.1093/bib/bbx108](https://doi.org/10.1093/bib/bbx108).

KUDLAWIEC, K. et al. *Eficiência de fungicidas para o controle da podridão de grãos da soja, na safra 2022/2023: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos*. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2023. 32 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 197).

KUMAR, S. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, v. 35, n. 6, p. 1547-1549, 2018. DOI: [10.1093/molbev/msy096](https://doi.org/10.1093/molbev/msy096).

LEWIS, N. G.; YAMAMOTO, E. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 41, p. 455-96, 1990. DOI: [10.1146/annurev.pp.41.060190.002323](https://doi.org/10.1146/annurev.pp.41.060190.002323). PMID: 11543592.

LI, S. Phomopsis seed decay of soybean. In: SUDARIĆ, A. (Ed.). *Soybean: Molecular aspects of breeding*. Rijeka, Croatia: InTech, 2011. p. 277-292. DOI: [10.5772/15688](https://doi.org/10.5772/15688).

LI, X. et al. Construction and characterization of bifunctional cellulases: *Caldicellulosiruptor*-sourced endoglucanase, CBM, and exoglucanase for efficient degradation of lignocellulose. *Biochemical Engineering Journal*, p. 107363, 2019. DOI: [10.1016/j.bej.2019.107363](https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107363).

LI, Z. et al. Agricultural nanodiagnostics for plant diseases: recent advances and challenges. *Nanoscale Advances*, v. 2, p. 3083-3094, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c9na00724e>. Acesso em: 15 set. 2020.

LÜCKING, R. et al. Fungal taxonomy and sequence-based nomenclature. *Nature Microbiology*, v. 6, n. 5, p. 540–548, 2021. DOI: 10.1038/s41564-021-00888-x.

MAIA, F. G. M. et al. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de mangueira com sintomas de antracnose. *Bioscience Journal*, v. 27, n. 2, p. 205-210, 2011.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA). *Projeções do Agronegócio: BRASIL 2020-2021 a 2030-2031*. Secretaria de Política Agrícola. Brasília, 2021. 102 p. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politicaagricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio-2020-2021-a-2030-2031.pdf/view>>. Acesso em: 15 set. 2021.

MCKINNEY, W. Data Structures for Statistical Computing in Python. In: *Proceedings of the 9th Python in Science Conference*, v. 445, p. 51-56, 2010.

MESSINA, M. Perspective: Soybeans Can Help Address the Caloric and Protein Needs of a Growing Global Population. *Frontiers in Nutrition*, v. 9, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.909464>>. Acesso em: 15 set. 2022.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. *Projeções do Agronegócio Brasil 2022/23 a 2032/33: Projeções de Longo Prazo*. Secretaria de Política Agrícola. Brasília: MAPA, 2023.

MOLINA, J. P. E. et al. Effect of target spot on soybean yield and factors affecting this relationship. *Plant Pathology*, v. 68, p. 107-115, 2019.

MOURA, J. C. M. S. et al. Abiotic and Biotic Stresses and Changes in the Lignin Content and Composition in Plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, v. 52, p. 360-376, 2010. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2010.00892.x.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI). *BLAST: Basic Local Alignment Search Tool*. 2008. Disponível em: <<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>>. Acesso em: 15 set. 2024.

ORT, N. W. W. et al. A comparison of soybean maturity groups for phenology, seed yield, and seed quality components between eastern Ontario and southern Manitoba. *Canadian Journal of Plant Science*, v. 102, n. 4, p. 812-822, 2022. DOI: 10.1139/cjps-2021-0235.

PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKY, F. C. Variação na condutividade elétrica de sementes de diferentes genótipos de soja e sua relação com o conteúdo de lignina no tegumento. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES*, 7., 1997, Foz do Iguaçu. *Informativo ABRATES*. Campinas: ABRATES, 1997. p. 173.

PAULI VIRTANEN, R. et al. SciPy 1.0: Fundamental Algorithms for Scientific Computing in Python. *Nature Methods*, v. 17, n. 3, p. 261-272, 2020.

PEREIRA, K. G. S.; JUNIOR, N. A. B.; BONALDO, S. M. Clínica de diagnose de doenças em plantas e sua importância para os sistemas produtivos do Brasil entre os anos de 2017 e 2021. In: *MANEJO DE PRAGAS E DOENÇAS - A BUSCA POR FORMAS SUSTENTÁVEIS DE CONTROLE - VOLUME 2*. Editora Científica Digital, 2022. p. 26-38. DOI: 10.37885/220207853.

PETROVIĆ, K. *Morphological, molecular and pathogenic characterization of species Diaporthe/Phomopsis on soybean in Serbia*. 2012. Doctoral dissertation, University of Belgrade, Belgrade, Serbia.

PETROVIĆ, K. et al. *Diaporthe pseudolongicolla*: The new pathogen on soybean seed in Serbia. *Field Crops Research*, v. 55, p. 103-109, 2018.

POLTRONIERI, T. P. de S.; AZEVEDO, L. A. S. de; SILVA, D. E. M. da. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de

Colletotrichum gloeosporioides, isolados de frutos de palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart). *Summa Phytopathologica*, v. 39, n. 4, p. 281-285, 2013.

PYTHON SOFTWARE FOUNDATION. *Python: A programming language*, v. 11.0.13. Disponível em: <<https://www.python.org>>. Acesso em: 14 ago. 2024.

RAJA, H. A. et al. Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *Journal of Natural Products*, v. 80, n. 3, p. 756–770, 2017. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b01085.

REYES, B. M. D. et al. Characterization of the microbiota dynamics associated with *Moniliophthora roreri*, causal agent of cocoa frosty pod rot disease, reveals new viral species. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 1053562, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1053562.

RIBEIRO, H. G. *Identificação morfológica de fungos fitopatogênicos e desenvolvimento de primer específico para identificação molecular do fungo fitopatogênico *Bipolaris sorokiniana**. 2019. 89 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/206199>>. Acesso em: 14 mar. 2025.

ROGÉRIO, F. et al. Means, motive, and opportunity for biological invasions: genetic introgression in a fungal pathogen. *Molecular Ecology*. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/mec.16366>>. Acesso em: 15 set. 2024.

SANTOS, E. L.; LIMA, M. M.; ALMEIDA, M. R.; SANTOS, F. J. Tolerância de genótipos de soja à germinação na vagem. *Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa*, v. 32, n. 63, p. 57-66, 2018.

SCHOCH, C. L. et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences, v. 109, n. 16, p. 6241–6246, 2012. DOI: 10.1073/pnas.1117018109.

SILVA, R. F. B. et al. Socioeconomic and environmental effects of soybean production in metacoupled systems. *Scientific Reports*, v. 11, p. 18662, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-98256-6>>. Acesso em: 15 set. 2024.

SOUZA, A. et al. Soybean photosynthesis and crop yield are improved by accelerating recovery from photoprotection. *Science*, v. 377, p. 851-854, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1126/science.adc9831>>. Acesso em: 15 set. 2024.

TEIXEIRA, P. J. P. L. et al. High-resolution transcript profiling of the atypical biotrophic interaction between *Theobroma cacao* and the fungal pathogen *Moniliophthora perniciosa*. *Plant Cell*, v. 26, p. 4245-4269, 2014. DOI: 10.1105/tpc.114.130807.

TENG, Z. et al. Environmental stimuli: A major challenge during grain filling in cereals. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms24032255>>. Acesso em: 15 set. 2024.

TRIVEDI, P. et al. Plant-microbiome interactions under a changing world: responses, consequences, and perspective. *The New Phytologist*. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/nph.18016>>. Acesso em: 15 set. 2024.

TRZECIAK, M. B. *Formação de sementes de soja: aspectos físicos, fisiológicos e bioquímicos*. 2013. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013. DOI: 10.11606/T.11.2013.tde-26042013-164651. Acesso em: 10 jun. 2024.

HEGEDÜS, B. et al. Unraveling morphogenesis, starvation, and light responses in a mushroom-forming fungus, *Coprinopsis cinerea*, using long read

sequencing and extensive expression profiling. Disponível em: <[link do artigo se disponível]>. Acesso em: 15 set. 2024.

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 CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROSSUSTENTÁVEIS (VI ECTA) e JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL (XI JCEA)*, 2022, Sinop, MT. Brasília: Embrapa, 2022. p. 30.

FAVERIN, V. Perdas de produtividade: Baixa incidência de anomalia da soja em 23/24 impediu avaliação de técnicas de manejo. *Canal Rural*, 27 jun. 2024. Disponível em: <<https://www.canalrural.com.br/agricultura/projeto-soja-brasil/baixa-incidencia-de-anomalia-da-soja-em-23-24-impediu-avaliacao-de-tecnicas-de-manejo/>>. Acesso em: 29 jul. 2024.

WASKOM, M. L. Seaborn: statistical data visualization. *Journal of Open Source Software*, v. 6, n. 60, p. 3021, 2021. DOI: 10.21105/joss.03021.

WISE, K. A.; NEWMAN, M. E. Frog-eye leaf spot. In: HARTMAN, G. L. et al. (eds). *Compendium of Soybean Diseases and Pests*. St. Paul: American Phytopathological Society, 2015. p. 43-45.

WRUCK, D. et al. Incidência de podridão das vagens e de outras doenças em soja, sob consórcios graníferos e forrageiros na segunda safra, em Sorriso, MT, safra 2021/2022. In: *ENCONTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROSSUSTENTÁVEIS (VI ECTA) e JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL (XI JCEA)*, 2022, Sinop, MT. Brasília: Embrapa, 2022.

WRUCK, D. S. M. et al. Análise fitopatológica de sementes de soja em diferentes sistemas de plantio direto com incidência do apodrecimento de grãos e vagens de soja (AVG). In: *ENCONTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROSSUSTENTÁVEIS (VI ECTA) e JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA*

AGROSSILVIPASTORIL (XI JCEA), 2022, Sinop, MT. Brasília: Embrapa, 2022. p. 9.

WRUCK, D. S. M. et al. Incidência de apodrecimento de grãos e vagens de soja (AVG) em diferentes sistemas de plantio direto. In: *ENCONTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROSSUSTENTÁVEIS (VI ECTA) e JORNADA CIENTÍFICA DA EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL (XI JCEA)*, 2022, Sinop, MT. Brasília: Embrapa, 2022. p. 8.