



**THAMIRES YSLANNY OLIVEIRA SOUSA**

**ESPÉCIES DO COMPLEXO *Fusarium solani* (FSSC)  
ASSOCIADAS A DOENÇAS RADICULARES DA SOJA**

**LAVRAS-MG  
2020**

**THAMIRES YSLANNY OLIVEIRA SOUSA**

**ESPÉCIES DO COMPLEXO *Fusarium solani* (FSSC) ASSOCIADAS A DOENÇAS  
RADICULARES DA SOJA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

Dr. Ludwig H. Pfenning  
Orientador

Dra. Sarah da Silva Costa Guimarães  
Co-orientadora

**LAVRAS-MG  
2020**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Sousa, Thamires Yslanny Oliveira.

Espécies do complexo *Fusarium solani* (FSSC) associadas a  
doenças radiculares da soja / Thamires Yslanny Oliveira Sousa. -  
2020.

51 p. : il.

Orientador(a): Ludwig H. Pfenning.

Coorientador(a): Sarah da Silva Costa Guimarães.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Podridão de raiz. 2. Glycine max. 3. Espécie biológica. I.  
Pfenning, Ludwig H.. II. Costa Guimarães, Sarah da Silva. III.  
Título.

**THAMIRES YSLANNY OLIVEIRA SOUSA**

**ESPÉCIES DO COMPLEXO *Fusarium solani* (FSSC) ASSOCIADAS A DOENÇAS  
RADICULARES DA SOJA**

**Members of the *Fusarium solani* SPECIES COMPLEX (FSSC) ASSOCIATED WITH  
SOYBEAN ROOT ROT**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 25 de setembro de 2020.

Dr. Ludwig H. Pfenning

Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende

Dr. Lucas Magalhães de Abreu

DFP - UFLA

DFP - UFLA

DFP – UFV

Dr. Ludwig H. Pfenning  
Orientador

Dra. Sarah da Silva Costa Guimarães  
Co-orientadora

**LAVRAS-MG  
2020**

*Aos meus pais Francisco Martins Sousa e Leonice da Conceição Oliveira, irmão Thalison  
Oliveira Sousa, demais familiares e amigos, pelo apoio e carinho.  
Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu forças para continuar nos momentos mais difíceis dessa trajetória.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia pela oportunidade concedida para a realização do Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Ludwig H. Pfenning pela atenção, pelos conhecimentos transmitidos e confiança durante esses dois anos.

À Dra. Sarah da Silva Costa, pelos ensinamentos, conversas e toda ajuda.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos, especialmente a Nevenka Moura, Marileide M. Costa, Janaina Martins, Flávia Capelossi, Gabriel Miguel, Arianna Menezes e Edson Luis Rezende pela colaboração na condução do trabalho e amizade.

Aos amigos que conheci em Lavras e levarei para toda vida, em especial minha turma de mestrado 18.2, Nevenka Moura, Rafaela Balisa, Felipe Douglas, David Duarte, Jessica Vieira, Carla Ribeiro, Nayane Souza, Lara Baret e amigos que conheci na UFLA, Thalita Maciel, Matheus Henrique, Marilia Guaraldo, Giselle Cardoso, Antônio Neto, Carlos Zanateli, Indiara Carol, Peterson Nunes.

A Ariane Alvarenga por todo apoio, ajuda e conversas durante esses dois anos de curso.

Aos meus pais e meu irmão, por sempre me motivarem a continuar em busca dos meus sonhos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão do trabalho, meus sinceros agradecimentos.

*Até aqui o senhor nos ajudou!*

*-1 Samuel 7:12*

## RESUMO GERAL

A cultura da soja é plantada em grande parte do território nacional Brasileiro. A produtividade pode ser afetada por fatores bióticos e abióticos. Dentre os fatores bióticos, a podridão vermelha da raiz PVR e a síndrome da morte súbita SDS são umas das doenças mais importantes, causadas por espécies do complexo *Fusarium solani* FSSC. Os sintomas induzidos por essas espécies são conhecidos por podridão do sistema radicular e do colo da planta e um sintoma típico de folha carijó no caso da SDS, induzido a partir de fitotoxinas produzidas pelo patógeno. O objetivo deste trabalho foi investigar quais espécies do complexo *Fusarium solani* (FSSC) estão associadas a essas doenças em plantações de soja no Brasil. Uma coleção de 17 isolados foi obtida de plantas sintomáticas dos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Após confecção de culturas monospóricas, os isolados foram submetidos à avaliação de caracteres morfológicos. Foi feita também a determinação de *mating types* por PCR e realizados testes de compatibilidade sexual. Isolados representativos para cada morfotipo identificado foram utilizados em testes de patogenicidade plantas, inoculadas pelo método de sorgo infestado. Os isolados obtidos foram identificados pertencentes a três espécies do FSSC, *F. tucumaniae*, *F. crassistipitatum*, representantes do clado 2, e *F. paranaense*, representante do clado 3. Na indução da fase sexuada em laboratório, isolados de *F. tucumaniae* foram férteis produzindo peritécios exsudando ascósporos viáveis. Todos os isolados testados induziram sintomas variáveis e típicos da síndrome da morte súbita da soja. *Fusarium tucumaniae* induziu mosaico e clorose 30 dias após inoculação e necrose internerval, 40 dias após inoculação. *Fusarium crassistipitatum* e *F. paranaense* não induziram sintomas nas folhas. Todas as espécies induziram o sintoma de podridão vermelha. Este trabalho confirma *F. tucumaniae* como o agente causal da síndrome da morte súbita da soja no Brasil. Os resultados gerados contribuem para a compreensão das espécies do FSSC causadoras de PVR e SDS em áreas de produção de soja no Brasil, e para o desenvolvimento de estratégias integradas no manejo, principalmente na seleção de materiais resistentes aos agentes etiológicos da doença.

**Palavras-chave:** Podridão de raiz. *Glycine max*. Espécie biológica.



## GENERAL ABSTRACT

Soybeans are planted in most of the parts of the Brazilian territory. Productivity can be affected by biotic or abiotic factors. Amongst biotic factors, fungal diseases like red root rot and sudden death syndrom SDS are the most important, caused by members of the *Fusarium solani* species complex FSSC. Most common symptoms are root rot and typical foliar necroses, like mottling and interveinal chlorosis. This chlorosis is induced through phytotoxins, produced by the pathogen. The objective of this study was to evaluate, which species of the FSSC are associated with those symptoms in soybean plantations in Brazil. A collection of 17 isolates was obtained from symptomatic plants from the states of Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso and Mato Grosso do Sul. After preparation of monospore cultures, morphological markers of the isolates were evaluated. Mating types were determined by means of a specific PCR reaction and lab crosses were then conducted to determine biological species. Representative isolates of each morphotype were used in pathogenicity tests by inoculation of plantlets by the method of infested sorghum grains. Isolates were identified as belonging to three species of the FSSC, *F. tucumaniae* and *F. crassistipitatum*, from Clade 2, and *F. paranaense*, from Clade 3. After crossing isolates of opposite mating types, isolates of *F. tucumaniae* induced fertile perithecia, exsuding viable ascospores. All tested isolates induced variable symptoms, but also typical symptoms of SDS. *Fusarium tucumaniae* induced mottling and interveinal chlorosis 30 days after inoculation, and necroses of leaves 40 days after inoculation. *Fusarium crassistipitatum* and *F. paranaense* didn't induce foliar symptoms. Nevertheless, all species tested induced typical symptoms of red root rot. This study confirms *F. tucumaniae* as the causal agent of SDS in Brazil. The results presented here contribute not only to the better understanding of members of the FSSC, which can cause PVR and SDS in soybean plantations in Brazil, but also to the development of strategies for integrated disease management, mainly regarding the selection of plant material, resistant to those pathogens.

**Keywords:** Root rot. *Glycine max.* *Biological species.*

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- Figura 1. Sintomas e sinais de SDS nos materiais coletados **A)** Folha carijó; **B)** Folha carijó em reboleira no campo de produção; **C)** Podridão vermelha na raiz; **D)** Esporodóquio de FSSC; Raízes coletadas nos municípios: **E)** Matozinho-MG; **F)** Chapadão do Sul-MS; **G)** Paracatu-MG; **H)** Ipameri-GO.....29
- Figura 2. Cultura de isolados do FSSC em meio BDA. **A-B)** *F. crassistipitatum*, TY26; **C-D)** *F. tucumaniae*, TY55; **E-F)** *F. paranaense*, TY18; **G-H)** *F. paranaense*, TY49; **I-J)** *F. paranaense*, TY19; **K-L)** *F. paranaense*, TY40; **M-N)** *F. tucumaniae*, TY35; **O-P)** *F. tucumaniae*, TY67; **Q-R)** *F. paranaense*, TY01; **S-T)** *F. tucumaniae*, TY29.....35
- Figura 3. Caracteres morfológicos das fases sexuada e assexuada de *F. tucumaniae* **A-C)** Peritécios dos isolados CML 2450 x TY35 em meio de cultura CA; **D-E)** Ascos e ascósporos, barra= 10 µm; **F e H)** Macroconídios do esporodóquio, barra= 10 µm; **G)** Cultura em meio BDA; **I)** Microconídio, barra= 10 µm; **J)** Falsas cabeças no micélio aéreo; **K)** Macroconídio no micélio aéreo, barra= 10 µm; **L)** Clamidósporo rugoso, barra= 10 µm.....36
- Figura 4. Caracteres morfológicos da fase assexuada. *F. crassistipitatum*: **A)** Macroconídios do esporodóquio, barra= 10 µm; **B)** Microconídios, barra= 10 µm; **C)** Clamidósporo em pares rugoso; **D)** Macrocnídios, barra= 10 µm; **E)** Macroconídio no micélio aéreo; **F)** Falsas cabeças no micélio aéreo.....37
- Figura 5. Sintomas de SDS observados nas plantas inoculadas: **A-B)** Folha carijó com clorose e necrose internerval causada por *F. tucumaniae* (MES 50 e TY55); **C)** Clorose internerval causada por *F. paranaense* (CML 1837); **D)** Clorose internerval causada por *F. crassistipitatum*; **E)** Testemunha. Podridão vermelha radicular causada por: **F-G)** *F. tucumaniae*; **H)** *F. paranaense*; **I)** *F. crassistipitatum*; **J)** Testemunha.....40
- Figura 6. Evolução dos sintomas de SDS induzidos por *F. tucumaniae* nas plantas inoculadas: **A)** Clorose leve, 30 DAI; **B-C)** Clorose acentuada com início de necrose, 35 DAI **D-E)** Clorose e necrose internerval, 40 DAI.....40

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

Tabela 1. Isolados de <i>Fusarium</i> oriundos de plantas de soja ( <i>Glycine max</i> ) avaliados neste estudo.....	30
Tabela 2. Escala diagramática de Huang e Hartman (1998).....	34
Tabela 3. Cruzamentos que produziram peritécios férteis entre isolados com morfotipo <i>F. tucumaniae</i> .....	38
Tabela 4. Patogenicidade de espécies do FSSC em plantas de soja ( <i>Glycine max</i> ), avaliando incidência e severidade de SDS.....	39
Tabela 1S. Comparação dos caracteres morfológicos dos isolados obtidos de plantas de soja com sintoma de SDS e das espécies do FSSC que causam doença na soja.....	48

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>13</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 ESTADO DA ARTE</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1 O cultivo da soja e sua importância econômica</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2 <i>Fusarium solani</i> species complex-FSSC</b> .....	<b>15</b>
<b>2.3 Síndrome da morte Súbita da soja</b> .....	<b>16</b>
<b>2.4 Epidemiologia</b> .....	<b>17</b>
<b>2.5 Controle da doença</b> .....	<b>18</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>19</b>
<b>CAPÍTULO 2 <i>Fusarium tucumaniae</i> é agente etiológico da morte súbita em soja no Brasil</b> .....	<b>23</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
<b>2.1 Obtenção dos isolados</b> .....	<b>28</b>
<b>2.2 Caracterização morfológica</b> .....	<b>30</b>
<b>2.3 Aplicação do conceito de espécie biológica</b> .....	<b>31</b>
<b>2.3.1 Teste de Homotalismo</b> .....	<b>31</b>
<b>2.3.2 Extração de DNA e determinação de mating type por PCR</b> .....	<b>31</b>
<b>2.3.3 Teste de compatibilidade sexual</b> .....	<b>32</b>
<b>2.4 Verificação da patogenicidade dos isolados pelo método de inoculação utilizando grãos de sorgo infestados</b> .....	<b>33</b>
<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
<b>3.1 Obtenção dos isolados</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2 Caracterização morfológica</b> .....	<b>34</b>
<b>3.3 Teste de homotalismo, determinação de <i>mating type</i> por PCR e teste de compatibilidade sexual</b> .....	<b>37</b>
<b>3.4 Patogenicidade</b> .....	<b>38</b>
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>44</b>
<b>MATERIAL COMPLEMENTAR</b> .....	<b>49</b>

## CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

### 1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das culturas mais importantes produzidas mundialmente. O grão é comumente utilizado na agroindústria (produção de óleo vegetal e rações para alimentação animal), indústria química e de alimentos, além do uso como fonte alternativa de biocombustível (COSTA NETO; ROSSI, 2000). No Brasil, é o principal produto exportado, tanto em volume, quanto em termos financeiros. Embora a maioria dos estados brasileiros produzam soja, mais de 50% da produção concentra-se em três estados: Mato Grosso, Paraná e Goiás (CONAB, 2020).

A soja corresponde a 49% da área plantada de grãos no Brasil, sendo considerada a cultura agrícola que mais cresceu nas últimas três décadas. A *commoditie* possui um cenário muito favorável na agricultura, sendo a sua produção uma atividade muito rentável para produtores e demais investidores, quando os fatores de produção estão enquadrados de acordo com as exigências da cultura (BARBOSA, 2020).

Entretanto, a produção de soja pode ser afetada tanto por fatores bióticos, quanto abióticos. Dentre os fatores bióticos, destaca-se a síndrome da morte súbita (SDS), devido à dificuldade de controle. Essa doença é causada por espécies de *Fusarium* do complexo *solani*, que infectam as plantas através das raízes, induzindo podridão radicular, clorose e necrose internervais nas folhas, mais visíveis após a floração e podendo progredir para uma desfolha prematura. Farias Neto et al., (2006) observaram que a produtividade de grãos foi reduzida em até 27% em cultivares suscetíveis, quando os sintomas da doença apresentaram-se de forma mais severa, acarretando em até 30% de desfolha no estágio R6.

A SDS é relatada nos EUA (HIRREL, 1983; RUPE, 1999), na Argentina (IVANCOVICH et al., 1992; BOTTA et al., 1993; PLOPER, 1993) e no Canadá (ANDERSON; TENUTA, 1998). No Brasil, a doença é observada em todas as principais regiões produtoras (NAKAJIMA et al., 1993, 1996; YORINORI et al., 1993; TEIXEIRA et al., 1998).

Essa doença é causada por pelo menos quatro espécies de *Fusarium*: *F. tucumaniae*, *F. virguliforme*, *F. brasiliense* e *F. Crassistipitatum* pertencentes ao 2-FSSC (AOKI et al., 2005, 2012). Destas espécies, somente um isolado de *F. crassistipitatum* (NRRL 31949/ CML 1882) foi oriundo do Brasil e a espécie *F. virguliforme* ainda não foi relatada, embora seja frequentemente descrita na América do Norte e na América do Sul. No 3-FSSC também já foram observadas espécies nas linhagens FSSC 11, FSSC 5 e na FSSC 3 + 4 (CHITRAMPALAM; NELSON Jr 2016) como *F. paranaense* (COSTA et al., 2016).

O uso de cultivares resistentes é a melhor alternativa de controle da SDS. Entretanto, para a condução de um programa de melhoramento bem-sucedido é necessário o conhecimento acerca da diversidade genética da população patogênica (EMBRAPA, 2002). Porém, no Brasil, apesar da soja ser um dos principais produtos produzidos e exportados no país, estudos sobre identidade e diversidade de espécies de *Fusarium solani*, causadoras da SDS, ainda são limitados.

Os estudos realizados por Aoki et al. (2003, 2005, 2011), e Costa et al. (2016) utilizando isolados oriundos do Brasil, relataram apenas as espécies *F. paranaense* e *F. tucumaniae*, no entanto espécies avaliadas por Costa et al. (2016) não induziram sintomas foliares. Diante disso, objetivou-se com esse trabalho responder as seguintes questões: (i) *Fusarium virguliforme* está presente no Brasil? (ii) *F. tucumaniae*, *F. crassistipitatum* e *F. brasiliense* serão novamente encontrados em campos de produção de soja no Brasil? (iii) É possível que as espécies se comportem de modo diferente quanto a severidade dos sintomas na planta?

## 2 ESTADO DA ARTE

### 2.1 O cultivo da soja e sua importância econômica

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) pertence à família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Glycininae e gênero *Glycine* (BARBIERI; STUMPF, 2008). É uma leguminosa anual, originária da Ásia oriental, introduzida a primeira vez no Brasil em 1882 na Bahia. A cultura depende de: luminosidade, fotoperíodo, temperatura e latitude para sua produção. Considerada uma planta herbácea, ereta e autógama, pode atingir de 30 a 200 cm de altura. O ciclo das cultivares pode variar entre 70 a 200 dias, mas a maioria das cultivares utilizadas no Brasil apresentam ciclo de 90 a 150 dias (SEDIYAMA, 2009).

A soja é uma das principais *commodities* mundiais, sendo produzida em mais de 60 países (CONAB, 2019), devido às suas diversas aplicações, seja na alimentação humana, animal e na indústria para a produção de outros derivados (HIRAKURI, 2013). No Brasil, é a principal cultura em extensão de área e volume de produção, representando aproximadamente 48% dos 251,42 milhões de toneladas de grãos produzidos em 2020 (CONAB, 2020). Na safra 2019/20 a produção foi estimada em 120,9 milhões de toneladas, recorde histórico, representando um ganho de 5,1% em relação à safra anterior.

A produção é liderada pelos estados Mato Grosso, com 29,3% da produção nacional; Paraná, com 17,1%; Goiás, 10,3%; Rio Grande do Sul, com 8,9%; Mato Grosso do Sul, 8,8%; Minas Gerais e Bahia com igual participação de 4,9% (CONAB, 2020). Novas áreas do país estão se tornando potenciais produtoras de soja como os estados Maranhão, Tocantins, Pará, Rondônia, Piauí e Bahia, que em 2017/18 responderam por 14,0% da produção brasileira, que corresponde a uma produção de 16,4 milhões de toneladas de soja (CONAB, 2019).

Para Balardin et al. (2017), as condições climáticas de um país tropical, como as do Brasil, favorecem a ocorrência de doenças de plantas que limitam o rendimento da cultura. Durante o ciclo da soja, alguns fatores abióticos e bióticos podem causar redução na produção final, destaque para os insetos-pragas e doenças. Quanto às doenças, a cultura é suscetível a mais de 40 patógenos, entre fungos, bactérias, nematoides e vírus (HENNING et al., 2014).

### 2.2 *Fusarium solani* species complex-FSSC

*Fusarium solani* species complex- FSSC é representado por pelo menos 60 espécies, determinadas filogeneticamente por meio de recursos moleculares (O'DONNELL et al., 2008; SCHROERS et al., 2016). Estudos baseados em filogenia evidenciam que as populações do FSSC são distribuídas em três clados: no clado 1 estão *F. illudens*, e *F. plagianthi*, ambos da

Nova Zelândia; o clado 2 é composto por isolados associados à PVR em *Glycine max* e à podridão radicular seca em *Phaseolus vulgaris*; no clado 3, estão presentes patógenos de outras plantas hospedeiras e espécies de importância clínica dentro do FSSC (O'DONNELL, 2000; O'DONNELL et al., 2008).

O complexo é constituído de espécies importantes que atingem uma ampla gama de hospedeiros como plantas cultivadas, humanos e animais. Algumas espécies desse complexo, além de causarem danos diretos e indiretos na agricultura, possuem a capacidade de produzir micotoxinas (MICHIELSE; REP, 2009).

Algumas das doenças causadas pelas espécies do FSSC, atingem plantas economicamente importantes, como a podridão vermelha da raiz da soja, podridão radicular seca do feijoeiro, fusariose da pimenta-do-reino e da ervilha, além da podridão seca e murcha em batata-doce, causando perdas na produção agrícola (COLEMAN, 2016 ; COSTA et al., 2016; LUO et al., 2000).

A forma de reprodução do patógeno também deve ser considerada, de modo a elucidar os fenômenos de geração de diversidade e quebra de resistência de cultivares. Assim, supõe-se que o modo reprodutivo de *F. virguliforme* (principal patógeno da SDS na América do Norte) possa ser diferente de *F. tucumaniae* (América do Sul). Provavelmente a baixa diversidade genética de *F. virguliforme* (ACHENBACH et al., 1996; O' DONNELL et al., 2010), tende com que a reprodução seja estritamente clonal, enquanto que a reprodução sexual de *F. tucumaniae* já foi induzida em laboratório (COVERT et al., 2007) e relatada no campo (SCANDIANI et al., 2010).

### 2.3 Síndrome da morte Súbita da soja

A SDS é causada por quatro espécies de *Fusarium* spp. (*F. virguliforme*, *F. brasiliense*, *F. crassistipitatum* e *F. tucumaniae*), agrupadas no clado 2 do FSSC (AOKI et al., 2003; AOKI et al., 2005; AOKI et al., 2012). Nos EUA, a SDS é constantemente relatada nos principais estados produtores de soja (O'DONNELL et al., 2010), contudo, a espécie *F. virguliforme* é a única relatada como patogênica.

A doença também foi observada na Argentina (IVANCOVICH et al., 1992; BOTTA et al., 1993; PLOPER, 1993) e no Canadá (ANDERSON; TENUTA, 1998). Na América do Sul, *F. tucumaniae* é a principal espécie causadora de SDS da soja (AOKI et al., 2003). Na Argentina, a SDS é causada por *F. tucumaniae*, *F. brasiliense*, *F. crassistipitatum*, *F. virguliforme*, sendo *F. tucumaniae* a espécie predominante (AOKI et al., 2005, 2012; O'DONNELL et al., 2010). Recentemente, *F. virguliforme* e *F. brasiliense* foram relatadas



como patógenos responsáveis por disseminação de SDS na África do Sul (TEWOLDEMEDHIN et al., 2017).

No Brasil, a doença é observada nas principais regiões produtoras (NAKAJIMA et al 1993, 1996; YORINORI et al., 1993; TEIXEIRA et al, 1998). Dentre as espécies do clado 2-FSSC foram descritas *F. tucumaniae*, *F. crassistipitatum* e *F. brasiliense*. A espécie *F. Virguliforme* ainda não foi relatada no país. Também foram descritas espécies do clado 3-FSSC, sendo essas representantes das linhagens FSSC 11, FSSC 5 e, na FSSC 3 + 4 (CHITRAMPALAM; NELSON Jr 2016) a espécie *F. paranaense* (COSTA et al., 2016).

As espécies causadoras de SDS provocam podridão radicular, clorose e necrose internervais (conhecidas como “folha carijó) nas folhas que são visíveis após a floração, podendo ocorrer também desfolha, abortamento de flores e vagens, acarretando uma drástica redução da produtividade (ROY et al., 1997). Plantas gravemente infectadas exibem um crescimento radicular deficiente, descoloração acastanhada do tecido cortical e, às vezes, esporodóquios azuis podem ser observadas na superfície das raízes (NAVI; YANG, 2008; GONGORA-CANUL et al., 2012). Os sintomas causados pela PVR são apenas a presença de podridão radicular, o que diferencia das espécies do clado 2-FSSC (COSTA et al., 2016) que causam sintomas foliares devido a produção de fitotoxinas.

Supõe-se que os sintomas foliares sejam desencadeados por uma ou mais toxinas liberadas pelo patógeno nas raízes, conduzido pelo sistema vascular para as folhas. Estudos de metabólitos produzido por *F. virguliforme* tem sido conduzidos e vários compostos foram sugeridos como candidatos para sintomas de SDS foliar, sendo a proteína FvTox1, considerada como um importante fator de virulência (JI et al., 2006; CHANG et al., 2016)

Em plantas infectadas por *F. tucumaniae*, o conteúdo do pigmento da clorofila e o nível de rubisco foram reduzidos nas folhas, principalmente em cultivares suscetíveis. Essa redução desencadeia uma regulação negativa dos genes compreendidos na biossíntese da clorofila e fotossíntese da planta, devido ao ataque do patógeno (BERGER et al., 2004; LOBATO et al., 2010).

## 2. 4 Epidemiologia

O desenvolvimento de fitodoeças está diretamente relacionado com as condições ambientais. Qualquer variedade de soja disponível pode desenvolver doenças quando as condições são favoráveis aos patógenos como por exemplo, a alta densidade de inóculo, umidade abundante no solo ou presença de nematoides causadores do cisto da soja (*Heterodera*

*glycines*) e outras espécies de nematoides (GONGORA-CANUL et al., 2012). A umidade do solo e as diferentes temperaturas são fatores que interferem na ocorrência e severidade da SDS.

Os sintomas foliares mais graves aparecem durante as estações chuvosas, quando os solos ficam saturados (GONGORA-CANUL; LEANDRO, 2011). Todas as espécies de *Fusarium* causadoras de SDS são capazes de produzir macroconídios, clamidósporos como meio de sobrevivência (WESTPHAL et al. 2008). Assim, solos infestados ou restos culturais servem como fonte de inóculo primário para o próximo ciclo da cultura e contribuem de maneira significativa para dispersão de patógenos (ROY et al., 1997; NAKAJIMA et al., 1993).

## **2.5 Controle da doença**

O controle químico para SDS não é eficiente (RUPE; HARTMAN, 1999) devido a impossibilidade de fungicidas se deslocarem até as raízes basipetalmente (SCANDIANI et al., 2010). A aplicação de técnicas capazes de melhorar a capacidade da drenagem do solo (SILVA et al., 2002) e uso de cultivares resistentes podem reduzir de forma significativa a população do patógeno no campo e as perdas ocasionadas pela doença.

Entretanto a resistência conferida pelas cultivares disponíveis no momento é parcial, ainda assim, as plantas apresentam sintomas típicos de podridão vermelha na raiz (GÁSPERI et al., 2003). Segundo Scandiani et al. (2010), estratégias de manejo comuns como a resistência genética, o tratamento de sementes com fungicidas e a rotação de culturas não proporcionam um controle adequado da SDS.

## REFERÊNCIAS

- ACHENBACH, L.A.; PATRICK, J.; GRAY L. Use of RAPD markers as a diagnostic tool for the identification of *Fusarium solani* isolates that cause soybean sudden death syndrome. **Plant disease**. 80, p. 1228-1232, 1996.
- AOKI, T. et al. A.R. Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex – *F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. **Mycologia**, Tokyo, v. 95, n. 4, p. 660-684, 2003.
- AOKI, T.; O'DONNELL, K.; SCANDIANI, M.M. Sudden death syndrome of soybean in south America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. **Mycoscience**, Lawrence, v. 46, p. 162-183, 2005.
- AOKI, T.; SCANDIANI, M.M.; O'DONNELL, K. Phenotypic, molecular phylogenetic, and pathogenetic characterization of *Fusarium crassistipitatum* sp. nov., a novel soybean sudden death syndrome pathogen from Argentina and Brazil. **Mycoscience** 53, p. 167–186, 2012.
- ANDERSON, T.R.; TENUTA, A.U. First report of *Fusarium solani* f.sp. *glycines* causing sudden death syndrome of soybean in Canada. **Plant Disease** 82. p. 448, 1998.
- BARBIERI, R.L.; STUMPF, E.R.T. Origem e evolução de plantas cultivadas. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**. p. 920, 2008.
- BARBOSA, D. Sua safra segura: Plantio de Soja. Disponível em: <<https://www.conceitoagricola.com.br/noticias/sua-safra-segura-plantio-de-soja/>>. Acesso em: 20 julho. 2020.
- BALARDIN, R.S. et al. **Mancozebe muito além de um fungicida**. 1. ed. p. 25-30, 2017.
- BERGER, S. et al. Complex regulation of gene expression, photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato, **Plant Physiology**. 122. p. 419–428, 2004.
- BOTTA, G.; IVANCOVICH, A.; ANNONE, J. Respuesta de Cultivares al Síndrome de la Muerte Repentina de la Soja. **Carpeta de Produccion Vegetal**. Tomo XII, Soja. Informacion no. 113. Argentina: EEA-INTA Pergamino, 1993.
- CHANG, H.X. et al. Identification of multiple phytotoxins produced by *Fusarium virguliforme* including a phytotoxic effector (FvNIS1) associated with sudden death syndrome foliar symptoms, **Molecular Plant Microbe Interaction** 29. p. 96–108, 2016
- CHITRAMPALAM, P.; NELSON JR, B. Multilocus phylogeny reveals an association of agriculturally important *Fusarium solani* species complex (FSSC) 11, and clinically important FSSC 5 and FSSC 3+ 4 with soybean roots in the north central United States. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 109, n. 2, p. 335-347, 2016

- COLEMAN, J.J. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance, **Molecular Plant Pathology**, 17, p. 146 – 158, 2016.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.7- **Safra 2019/20 - Primeiro levantamento**, Brasília, p. 1- 47, 2019.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v. 7 - **Safra 2019/20 - Décimo segundo levantamento**, Brasília, p. 1-68, 2020.
- COSTA NETO, P.R. et al. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química nova**, vol.23 n.4, 2000.
- COSTA, S.S. et al. *Fusarium paranaense* sp. nov., a member of the *Fusarium solani* species complex causes root rot on *soybean* in Brazil. **Fungal Biology**, v. 120, n. 1, p. 51-60, 2016.
- COVERT, S.F. et al. Sexual reproduction in the soybean sudden death syndrome pathogen *Fusarium tucumaniae*. **Fungal Genetics and Biology** 44, p. 799-807, 2007.
- IVANCOVICH, A.; BOTTA, G.; ANNONE, J. Síndrome de la Muerte Repentina en Cultivos de Soja en el Area de la EEA Pergamino. **Carpeta de Produccion Vegetal**. Tomo XI, Soja. Informacion no. 94. Argentina: EEA-INTA Pergamino, 1992.
- EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Tecnologia de produção de soja na região Central do Brasil**. Londrina, 2002.
- FARIAS NETO, A.L. et al. Irrigation and inoculation treatments that increase the severity of soybean sudden death syndrome in the field. **Crop Science**, v. 46, p. 2547-2554, 2006.
- GÁSPERI, A.C.; PRESTES, A.M.; COSTAMILAN, L.M. Reação de cultivares de soja à podridão vermelha da raiz causada por *Fusarium solani* f. sp. *glycyne*s. **Fitopatologia Brasileira**, 28. p. 544-547, 2003.
- GONGORA-CANUL, C.; LEANDRO, L. Plant age affects root infection and development of foliar symptoms of *soybean* sudden death syndrome. **Plant Disease** 95, p. 242–247, 2011.
- GONGORA-CANUL, C.; NUTTER, F.J.; LEANDRO, L. Temporal dynamics of root and foliar severity of soybean sudden death syndrome at different inoculum densities. **European Journal of Plant Pathology** 132, p. 71–79, 2012.
- HIRAKURI, M.H. Avaliação econômica da produção de soja para a safra 2013/14. Londrina: **Embrapa Soja**. 10 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 102), 2013.
- HIRREL, M.C. Sudden soy death syndrome - A disease of unknown etiology. (Abstr.) **Phytopathology** 73. p. 501, 1983.
- HENNING, A.A. et al. **Manual de identificação de doenças de soja**. 5.ed. Londrina: Embrapa Soja v.4, p.13-23, 2014.

JI, J.; SCOTT, M.P.; BHATTACHARYYA, M.K. Light is essential for degradation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase large subunit during sudden death syndrome development in soybean, **Plant Biology** (Stuttg.) 8. p.597–605, 2006.

LOBATO, A.S.K. et al. Relationships between leaf pigments and photosynthesis in common bean plants infected by anthracnose, N. Z. J. **Crop Horticulture**. Science. 38. p. 29–37, 2010.

LUO, L. et al. Loss of soybean production due to sudden death syndrome in relation to symptom expression and root colonization by *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. **Plant Disease**, 84, p. 914 – 920, 2000.

MICHIELSE, C.; REP, M. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. **Molecular plant pathology**, v. 10, p. 311–324, 2009.

NAKAJIMA, T.; MITSUEDA, T.; CHARCHAR, M.J.D. Occurrence of *soybean* sudden death syndrome caused by *Fusarium solani* in Brazil. In: Nelson PE, ed. **Seventh International Fusarium Workshop**. University Park, PA, USA: Pennsylvania State University Press, 79, 1993.

NAKAJIMA, T.; MITSUEDA, T.; CHARCHAR, M.J.D. First occurrence of sudden death syndrome of *soybean* in Brazil. **Japanese Agricultural Research Quarterly** 30. p. 31–4, 1996.

NAVI, S.; YANG, X. Foliar symptom expression in association with early infection and xylem colonization by *Fusarium virguliforme* (formerly *F. solani* f. sp. *glycines*), the causal agent of soybean sudden death syndrome. **Plant Health Progress** doi: 10.1094/PHP-2008-0222-01-RS, 2008.

O'DONNELL, K. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca-Fusarium solani* species complex. **Mycology**, Lawrence, v. 92, n. 5, p. 919-938, 2000.

O'DONNELL, K. et al. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. **Journal Clinical Microbiology**, [S.l.], v. 46, n. 8, p. 2477- 2490, 2008.

O'DONNELL, K. et al. Soybean sudden death syndrome species diversity within North and South America revealed by multilocus genotyping. **Phytopathology** 100:58-71, 2010.

PLOPER, D. Síndrome de la muerte súbita: nueva enfermedad de la soja en el noroeste argentino. **Avance Agroindustrial** Año 13 (54), p. 5– 9, 1993.

ROY, K.W. Sporulation of *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, the causal agent of sudden death syndrome, on soybean plants symptomatic for the disease in the midwestern and southern United States. **Plant Disease** 81, p. 566-569, 1997.

RUPE, J.C.; HIRREL, M.C.; HERSHMAM, D.E. Sudden death syndrome. In: HARTMAN, G.L. et al. **Compendium of soybean diseases**. 4.ed. St. Paul: Aps. p.37-39 1999.

- SCANDIANI, M. et al. First Report of Sexual Reproduction by the Soybean Sudden Death Syndrome Pathogen *Fusarium tucumaniae* in Nature. **Plant Disease**. 94, p.1411-1416, 2010.
- SCHERM, H.; YANG, X.B. Development of sudden death syndrome of soybean in relation to soil temperature and soil water matric potential. **Phytopathology** 86, p. 642-649, 1996.
- SCHROERS, H. et al. Epitypification of *Fusisporium (Fusarium) solani* and its assignment to a common phylogenetic species in the *Fusarium solani* species complex. **Mycologia**, v. 108:4, p. 806–809, 2016.
- SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina, PR: Mecenias. 314 p. ISBN 9788589687089, 2009.
- SILVA, J.F.V. et al. Contribuição ao desenvolvimento de linhagens de soja com resistência a patógenos. Londrina, **Embrapa Soja**. 43 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 1), 2002.
- TEIXEIRA, A.B. et al. Constatação de *Fusarium solani* f.sp. *glycines* (síndrome da morte súbita) em áreas de Goiás, Distrito Federal e Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira** 23. p. 286, 1998.
- TEWOLDEMEDHIN, Y.T. et al. Soybean SDS in South Africa is Caused by *Fusarium brasiliense* and a Novel Undescribed *Fusarium* sp. **Plant Disease** 101 (1): 150-157. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-16-0792-RE>, 2017.
- WESTPHAL, A. et al. Sudden death syndrome of soybean. **The plant health instructor**. St. Paul: Purdue University, 2008.
- YORINORI, J.T.; Doenças da soja e seu controle. In: Arantes NE, Souza PIM, eds. **Cultura da Soja nos Cerrados**. Piracicaba, SP, Brazil: POTAFOS, p. 333–97, 1993.

## CAPÍTULO 2

### ***Fusarium tucumaniae* é agente etiológico da morte súbita em soja no Brasil**

Thamires Y. O. Sousa<sup>1</sup>, Sarah S. C. Guimarães<sup>1</sup>, Ludwig H Pfenning<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 37200-000 Lavras, MG, Brazil.

\*Autor para correspondência: Ludwig H Pfenning E-mail: ludwigufla@gmail.com

Manuscrito preparado para submissão à revista Tropical Plant Pathology (JCR 2019: 1,338)

## RESUMO

A cultura da soja é plantada em grande parte do território nacional Brasileiro. A produtividade pode ser afetada por fatores bióticos e abióticos. Dentre os fatores bióticos, a podridão vermelha da raiz PVR e a síndrome da morte súbita SDS são umas das doenças mais importantes, causadas por espécies do complexo *Fusarium solani* FSSC. Os sintomas induzidos por essas espécies são conhecidos por podridão do sistema radicular e do colo da planta e um sintoma típico de folha carijó no caso da SDS, induzido a partir de fitotoxinas produzidas pelo patógeno. O objetivo deste trabalho foi investigar quais espécies do complexo *Fusarium solani* (FSSC) estão associadas a essas doenças em plantações de soja no Brasil. Uma coleção de 17 isolados foi obtida de plantas sintomáticas dos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Após confecção de culturas monospóricas, os isolados foram submetidos à avaliação de caracteres morfológicos. Foi feita também a determinação de *mating types* por PCR e realizados testes de compatibilidade sexual. Isolados representativos para cada morfotipo identificado foram utilizados em testes de patogenicidade plantas, inoculadas pelo método de sorgo infestado. Os isolados obtidos foram identificados pertencentes a três espécies do FSSC, *F. tucumaniae*, *F. crassistipitatum*, representantes do clado 2, e *F. paranaense*, representante do clado 3. Na indução da fase sexuada em laboratório, isolados de *F. tucumaniae* foram férteis produzindo peritécios exsudando ascósporos viáveis. Todos os isolados testados induziram sintomas variáveis e típicos da síndrome da morte súbita da soja. *Fusarium tucumaniae* induziu mosaico e clorose 30 dias após inoculação e necrose internerval, 40 dias após inoculação. *Fusarium crassistipitatum* e *F. paranaense* não induziram sintomas nas folhas. Todas as espécies induziram o sintoma de podridão vermelha. Este trabalho confirma *F. tucumaniae* como o agente causal da síndrome da morte súbita da soja no Brasil. Os resultados gerados contribuem para a compreensão das espécies do FSSC causadoras de PVR e SDS em áreas de produção de soja no Brasil, e para o desenvolvimento de estratégias integradas no manejo, principalmente na seleção de materiais resistentes aos agentes etiológicos da doença.

**Palavras-chave:** Podridão de raiz. *Glycine max*. Espécie biológica.



## ABSTRACT

Soybeans are planted in most of the parts of the Brazilian territory. Productivity can be affected by biotic or abiotic factors. Amongst biotic factors, fungal diseases like red root rot and sudden death syndrom SDS are the most important, caused by members of the *Fusarium solani* species complex FSSC. Most common symptoms are root rot and typical foliar necroses, like mottling and interveinal chlorosis. This chlorosis is induced through phytotoxins, produced by the pathogen. The objective of this study was to evaluate, which species of the FSSC are associated with those symptoms in soybean plantations in Brazil. A collection of 17 isolates was obtained from symptomatic plants from the states of Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso and Mato Grosso do Sul. After preparation of monospore cultures, morphological markers of the isolates were evaluated. Mating types were determined by means of a specific PCR reaction and lab crosses were then conducted to determine biological species. Representative isolates of each morphotype were used in pathogenicity tests by inoculation of plantlets by the method of infested sorghum grains. Isolates were identified as belonging to three species of the FSSC, *F. tucumaniae* and *F. crassistipitatum*, from Clade 2, and *F. paranaense*, from Clade 3. After crossing isolates of opposite mating types, isolates of *F. tucumaniae* induced fertile perithecia, exsuding viable ascospores. All tested isolates induced variable symptoms, but also typical symptoms of SDS. *F. tucumaniae* induced mottling and interveinal chlorosis 30 days after inoculation, and necroses of leaves 40 days after inoculation. *F. crassistipitatum* and *F. paranaense* didn't induce foliar symptoms. Nevertheless, all species tested induced typical symptoms of red root rot. This study confirms *F. tucumaniae* as the causal agent of SDS in Brazil. The results presented here contribute not only to the better understanding of members of the FSSC, which can cause PVR and SDS in soybean plantations in Brazil, but also to the development of strategies for integrated disease management, mainly regarding the selection of plant material, resistant to those pathogens.

**Keywords:** Root rot. *Glycine max*. Biological species.

## 1 INTRODUÇÃO

A Síndrome da morte súbita é uma doença importante e que pode causar perdas consideráveis, atingindo até 70% da produção da soja (Freitas et al., 2004). Foi detectada pela primeira vez nos EUA em 1971 (Hirrel, 1983; Rupe, 1999) e relatada no Brasil aproximadamente 10 anos depois, no estado de Minas Gerais (Yorinori et al., 1993). Na década de 1990, o aumento da sua incidência foi observado nas principais regiões produtoras, incluindo as regiões do Cerrado brasileiro (Nakajima et al., 1993, 1996; Yorinori et al., 1993; Teixeira et al., 1998). A doença também foi relatada na Argentina (Ivancovich et al., 1992; Botta et al., 1993; Ploper, 1993), no Canadá (Anderson; Tenuta, 1998) e recentemente na África do Sul (Tewoldemedhin et al., 2014; 2017). Essa doença é causada por pelo menos quatro espécies do complexo *Fusarium solani* do Clado 2-FSSC: *F. tucumaniae*, *F. virguliforme*, *F. brasiliense* e *F. crassistipitatum* (Aoki et al., 2003, 2005, 2012). Segundo O' Donnell et al., (2010), *F. tucumaniae* é a espécie predominante na Argentina, e *Fusarium virguliforme* nos Estados Unidos (Aoki et al., 2003, 2005) . No Brasil, todas as espécies já foram relatadas, exceto *F. virguliforme* (Aoki et al. 2003, 2005, 2012).

Outra doença da soja é a podridão vermelha da raiz PVR, causada por espécies do clado 3-FSSC, como *Fusarium paranaense* (FSSC 3 + 4), *F. solani* (FSSC 5), e *F. pisi* (FSSC 11), (Costa et al., 2016; Chitrampalam; Nelson Jr 2016). Essas espécies induzem apenas sintomas de podridão de raiz, diferentemente das espécies do clado 2-FSSC que também causam o sintoma foliar de clorose e necrose interveiais, denominado de folha carijó. Esse sintoma é mais visível após a floração e podendo progredir para uma desfolha prematura (Roy et al., 1997).

Dependendo da susceptibilidade da planta e do tipo de espécie de FSSC presente na área, podem ser observados sintomas mais severos tais como crescimento radicular deficiente, descoloração acastanhada do tecido cortical e, às vezes, massas azuladas de conídios visíveis na superfície da raiz. (Rupe; Hartman, 1999; Navi; Yang, 2008; Gongora-Canul; Leandro, 2011; Gongora-Canul et al., 2012). Outros sintomas, incluem manchas nas folhas na parte superior da planta, descoloração vascular da parte inferior do caule, aborto das vagens, retenção de pecíolos e coloração vermelha nas hastes (Rupe; Hartman, 1999).

Farias Neto et al. (2006) observaram redução em até 27% da produtividade de grãos, em cultivares suscetíveis; as plantas apresentaram sintomas foliares acentuados chegando até 30% de desfolha no estágio R6. Supõe-se que os sintomas foliares sejam desencadeados por uma ou mais toxinas liberadas pelo patógeno nas raízes, conduzidos para a parte aérea pelo

sistema vascular. Foi mostrado que a produção da toxina FvTox1, por *F. virguliforme* é um importante fator de virulência (Ji et al., 2006; Chang et al., 2016).

O uso de cultivares resistentes é a melhor alternativa de controle da SDS. Entretanto, para a condução de um programa de melhoramento bem-sucedido é necessário o conhecimento acerca da diversidade genética da população patogênica (Embrapa, 2002). Porém, no Brasil, apesar da soja gerar dividendos por meio das exportações, estudos sobre identidade e diversidade genética da população de *Fusarium solani* causadoras da SDS são limitados.

Portanto, esse estudo objetivou-se investigar quais espécies do complexo *Fusarium solani* (FSSC) estão associadas a essas doenças em plantações de soja no Brasil, com as seguintes questões a responder: (i) *Fusarium virguliforme* está presente no Brasil? (ii) *F. tucumaniae*, *F. crassistipitatum* e *F. brasiliense* serão novamente encontrados em campos de produção de soja no Brasil? (iii) É possível que as espécies se comportem de modo diferente quanto à severidade dos sintomas na planta?

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

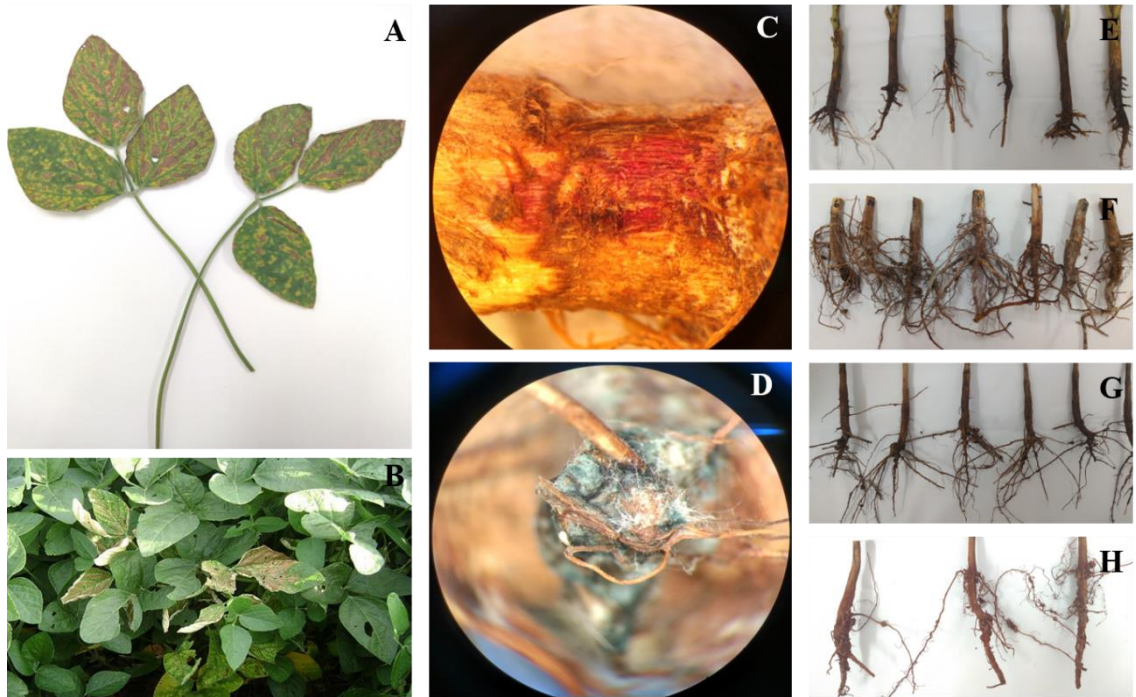
Os testes foram realizados no Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos- LSEF do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras- UFLA- MG.

### 2.1 Obtenção dos isolados

Os isolamentos foram realizados a partir de plantas sintomáticas com a presença de folha carijó e podridão vermelha na raiz, que apresentaram conformidade em reboleiras nos campos de produção de soja provenientes do estado de Minas gerais dos municípios de: Madre de Deus; Luminárias; Matozinho. Goiás do município de: Ipameri. Mato Grosso do município de: Lucas do Rio Verde. Mato Grosso do Sul dos municípios de: Ponta-porã e Chapadão do Sul (Tabela 1; Figura 1). Seguindo o protocolo de coleta elaborado, as amostras adquiridas foram condicionadas em sacos de papel. Foram analisadas em média 5 amostras por campo de produção.

As raízes das plantas foram processadas a partir da metodologia de Roy (1997) adaptada no LSEF. As amostras foram lavadas em água corrente para retirada do excesso de solo e envolvidas individualmente em folhas de jornal umedecidas. Em seguida, as raízes foram incubadas em geladeira a 10 °C, no escuro, por aproximadamente quatro dias e incubado um dia em temperatura ambiente, a fim de induzir a esporulação do fungo. Após os dias de incubação, as raízes foram observadas em lupas para verificação da esporulação e formação de esporodóquio. A esporulação foi identificada quanto à presença de macroconídios no esporodóquio e transferidos para placa de Petri de 90 mm contendo meio Malte 2% com estreptomicina. As placas foram incubadas com a tampa para baixo a 25°C no escuro ou fotoperíodo de 12 horas, por 4 dias.

Os isolados que apresentaram características morfológicas das espécies do complexo *F. solani* foram submetidos a cultivo monospórico e preservados em água destilada esterilizada e armazenados a 10 °C, no escuro e criopreservados em suspensão de esporos em 15% glicerol a -80 °C, e depositados na Coleção Micológica de Lavras (CML). Foram obtidos também isolados de referência das espécies *F. brasiliense*, *F. tucumaniae*, *F. crassistipitatum*, *F. paranaense* (FSSC 3+4), *Fusarium solani* (FSSC 5) e *Fusarium pisi* (FSSC 11) todos preservados na Coleção Micológica de Lavras (CML), Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras (Tabela 1).



**Figura 1.** Sintomas e sinais de SDS nos materiais coletados **A)** Folha carijó; **B)** Folha carijó em reboleira no campo de produção; **C)** Podridão vermelha na raiz; **D)** Esporodóquio de FSSC; Raízes coletadas nos municípios: **E)** Matozinho-MG; **F)** Chapadão do Sul-MS; **G)** Paracatu-MG; **H)** Ipameri-GO.

**Tabela 1.** Isolados de *Fusarium* oriundos de plantas de soja (*Glycine max*) avaliados neste estudo.

CML	Outros códigos	Morfotipo/Espécie	Origem Geográfica	Mating type
	TY01*	<i>Fusarium paranaense</i>	Madre de Deus, MG	ND
	TY04	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Madre de Deus, MG	1
	TY08	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Madre de Deus, MG	2
	TY10	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Madre de Deus, MG	1
	TY11	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Madre de Deus, MG	2
	TY13	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Madre de Deus, MG	1
	TY14	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Madre de Deus, MG	2
	TY18*	<i>Fusarium paranaense</i>	Lucas do Rio Verde, MT	ND
	TY19*	<i>Fusarium paranaense</i>	Lucas do Rio Verde, MT	1
	TY26*	<i>Fusarium crassistipitatum</i>	Lucas do Rio Verde, MT	ND
	TY29	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Luminárias, MG	2
	TY35*	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Luminárias, MG	2
	TY40*	<i>Fusarium paranaense</i>	Ponta-Porã, MS	1
	TY49*	<i>Fusarium paranaense</i>	Chapadão do Sul, MS	ND
	TY55*	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Ipameri, GO	ND
	TY65	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Luminárias, MG	2
	TY67	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Matozinho, MG	1
1886	NRRL 22678	<i>Fusarium brasiliense</i>	Califórnia, USA	ND
2231	NRRL 22743	<i>Fusarium brasiliense</i>	Brasília, DF- Brasil	ND
1882*	NRRL 31949	<i>Fusarium crassistipitatum</i>	Cristalina, GO- Brasil	ND
1830*	MES 24	<i>Fusarium paranaense</i> (FSSC 3+4)	Cristalina, GO- Brasil	1
1837*	MES 01	<i>Fusarium paranaense</i> (FSSC 3+4)	Brasília, DF- Brasil	1
1890	NRRL 34546	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Brasília, DF- Brasil	ND
1891*	NRRL 31773	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Ponta Grossa, PR- Brasil	2
	MES50*	<i>Fusarium tucumaniae</i>	Nova Ponte- MG, Brasil	ND

**TY** = Código pessoal de Thamires Yslanny, Lavras, Minas Gerais, Brasil;

**CML** = Coleção Micológica de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. HT Holotype, PT Paratype.);

**MES** = Micoteca Embrapa Soja, Embrapa Soja, Londrina Paraná, Brasil;

**NRRL** = Coleção de Culturas ARS, Peoria IL, EUA.);

**ND** = Mating type não determinado

\* Isolados utilizados no teste de patogenicidade.

## 2.2 Caracterização morfológica

A caracterização morfológica dos isolados foi realizada seguindo as especificações descritas em Aoki et al (2003). Os isolados foram crescidos em placas plásticas de Petri de 6-cm de diâmetro, nos meios batata dextrose ágar (BDA) e em synthetic *low nutrient agar* (SNA) com folha de cravo e foram incubados em BOD, a 25 °C, no escuro e a 20 °C, com fotoperíodo de 12 horas, respectivamente. A morfologia, pigmentação, odor e taxa de crescimento das colônias foram avaliadas em BDA após quatro dias da inoculação. As características micromorfológicas foram avaliadas em SNA com folha de cravo, entre 10 e 14 dias após a inoculação. Procedeu-se à mensuração dos conídios produzidos no micélio aéreo e esporodóquio, bem como à observação do formato e septação dos mesmos. Também foram observadas as características dos conidióforos e a produção de clamidósporos. As

características morfológicas dos isolados obtidos foram comparadas com as dos isolados de referência (Tabela 1).

### 2.3 Aplicação do conceito de espécie biológica

Para confirmar a identidade dos isolados identificados como *F. tucumaniae* (TY04, TY08, TY10, TY13, TY14, TY29, TY35, TY65 e TY67), com base na morfologia, eles foram submetidos ao teste de compatibilidade sexual sendo cruzados com o isolado de referência de *F. tucumaniae* (CML 2450) e entre eles.

#### 2.3.1 Teste de Homotalismo

Para evitar resultados falsos positivos nos cruzamentos, os isolados foram submetidos ao teste de homotalismo. Os isolados monospóricos foram cultivados em placas de Petri (60 x 15mm), contendo o meio de cultura Cenoura ágar- CA (Tuite, 1969) e incubados a 25 °C no escuro por sete dias. Após o período de incubação, 2 mL de solução de Tween 80 a 2,5% (v/v) foi adicionada à colônia e espalhados com o auxílio da alça de Drigalsky, para promover estresse nos isolados e homogeneizar o micélio. As culturas foram incubadas a 22-23 °C sob luz constante por 30 dias (Covert et al., 2007). Os testes foram repetidos duas vezes, para a confirmação dos resultados (Leslie; Summerell, 2006). Os isolados que não produziram peritécios férteis foram submetidos à determinação de *mating type* e ao teste de compatibilidade sexual.

#### 2.3.2 Extração de DNA e determinação de *mating type* por PCR

Os isolados foram cultivados em meio líquido à base de extrato de malte 2% por três dias, em temperatura ambiente (25 °C a 28 °C) sob agitação de 100 rpm em agitador de mesa orbital. O micélio foi filtrado, macerado em nitrogênio líquido, e a extração de DNA foi realizada através do kit Wizard ®Genomic DNA purification (Promega do Brasil), de acordo com as especificações do fabricante. A concentração do DNA foi verificada utilizando-se o aparelho <sup>TM</sup> NanoDrop <sup>TM</sup> One / OneC da Thermo Scientific, e visualmente em gel de agarose 1,3% por comparação da intensidade de banda com um marcador de tamanho de fragmentos de 1 kb (Invitrogen). O *mating type* dos isolados monospóricos foi determinado por meio da amplificação do idiomorfo MAT1-1 e MAT1-2, utilizando os primers desenvolvidos por Matos (2014). O par de primer FsolMat1F (CGCCTCTGAATGCCTTTATG) e FsolMat1R (GGAGTAGACCTTGGCAATGAGGGC) amplifica um fragmento de 200pb, identificando o idiomorfo MAT1-1. Com o uso do par de primer FsolMat2F (GTCTATGCACCCTGGCATC),

e FsolMat2R (TGGGCGGTCAAGGTAGTCGGG) foi amplificado um fragmento de 260 pb, identificando o idiomorfo MAT1-2. As condições para a amplificação foram: 94 °C por 30 segundos, seguida por 30 ciclos de 94 °C por 30 segundos, temperatura de anelamento de 55 °C por 30 segundos, 72 °C por 90 segundos e extensão final de 72 °C por 60 segundos. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,3% para visualização dos resultados. O comprimento dos fragmentos amplificados foi comparado com um marcador de DNA de 100 pb (New England BioLabs, EUA).

### 2.3.3 Teste de compatibilidade sexual

Os cruzamentos foram realizados utilizando-se protocolo adaptado por Leslie e Summerell (2006), entre os onze isolados identificados pela morfologia como *Fusarium tucumaniae* (TY4, TY8, TY10, TY13, TY14, TY29, TY35, TY65, TY67) e o isolado de referência de *Fusarium tucumaniae* (CML 2450). Os isolados usados como parental masculino foram cultivados em tubo de ensaio contendo meio completo e incubados a 20°C sob fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. Os isolados usados como parental feminino foram cultivados em placas de Petri (60 x 15 mm) contendo meio cenoura ágar e incubados a 25°C no escuro por sete dias. Após o período de incubação, foi preparada uma suspensão de esporos usando o parental masculino pela adição de 1 mL de solução de Tween 80 e água destilada esterilizada a 2,5% (v/v). Em seguida, a suspensão foi depositada na superfície da colônia do isolado usado como parental feminino e por meio de uma alça de Drigalski, espalhado de modo a umedecer completamente o micélio. Os cruzamentos foram incubados a 22 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente combinada com luz negra, por um período de até cinco semanas. Cruzamentos foram considerados férteis quando produziram peritécios com exsudação de ascósporos. Os cruzamentos foram repetidos duas vezes para a confirmação dos resultados. A viabilidade dos ascósporos foi analisada pelo teste de germinação em ágar-água 2%. Cirros de ascósporos foram coletados com o auxílio de um estilete de ponta extremamente fina e, em seguida, espalhados sobre a superfície do ágar com uma alça de Drigalski e algumas gotas de água estéril. As placas de Petri contendo os ascósporos foram incubadas no escuro, a 25 °C, por 24 horas. Após o período de incubação, foi avaliada a germinação dos ascósporos com objetiva de 40 vezes, em microscópio de luz. Um isolado de cada *mating type* que apresentou maior fertilidade foi selecionado como testador para a espécie biológica do estudo.



## **2.4 Verificação da patogenicidade dos isolados pelo método de inoculação utilizando grãos de sorgo infestados**

Os isolados utilizados no teste de patogenicidade foram selecionados com base no resultado do pré-teste de patogenicidade. Os isolados avaliados quanto à indução dos sintomas de podridão de raiz e folha carijó foram TY01, TY18, TY19, TY26, TY35, TY40, TY49, TY55, *Fusarium crassistipitatum* CML 1882, *Fusarium paranaense* CML1830 e CML 1837, *Fusarium tucumaniae* CML 1891 e MES 50.

O inóculo foi cultivado em placas de Petri de 9 cm contendo meio BDA durante sete dias, sob temperatura de 25°C, no escuro. Três discos de micélio, com aproximadamente 6 mm foram retirados de colônias desenvolvidas e adicionados em tubos falcon de 50 mL, contendo 24 g de grãos de sorgo umedecidos com 2mL de água destilada, previamente autoclavados em um período de dois dias (60 minutos, a 121 °C). Os tubos foram incubados em câmara BOD à uma temperatura de 25 °C, no escuro, durante 15 dias. Para a inoculação, foi adotado o seguinte procedimento: foram preparados vasos de 3L com uma mistura composta de solo, areia e substrato Carolina® (3:1:1), em que 24 gramas de grãos de sorgo colonizados foram adicionados ao vaso, sendo, em seguida, cobertos com uma camada de 2 cm de mistura. Posteriormente, a soja foi semeada e uma outra camada da mistura foi adicionada com aproximadamente 2 cm cobrindo as cinco sementes. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, à uma temperatura de 25±3°C por seis semanas. As testemunhas foram preparadas com sementes de sorgo não inoculadas (Hartman et al., 1997).

Os experimentos foram conduzidos utilizando-se a cultivar Desafio RR da Brasmax, que obteve mais amostras em campo com sintomas. Após a semeadura foram adubados com a mistura de NPK (Nitrogênio, Fósforo e Potássio) na formulação 4-14-8. Os tratamentos (isolados) foram arrançados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições (duas plantas/repetição). Para avaliação, foram realizadas análise descritiva da presença ou da ausência de sintomas e severidade da doença na folha (SDS), quanto ao sintoma radicular apenas realizou-se análises descritivas. Foram realizadas avaliações aos 20, 30 e 40 dias após a inoculação (DAI), com base na escala diagramática de Huang e Hartman (1998) observando-se todas as folhas da planta (Tabela 2). O postulado de Koch foi completado por meio do reisolamento dos isolados inoculados em raízes das plantas de soja. A identidade dos isolados obtidos no reisolamento foi confirmada através da caracterização morfológica.

Para avaliação dos dados de patogenicidade nas plantas, realizou-se através da escala diagramática com a severidade da doença. As notas foram submetidas a tabela de conversão do

índice de McKinney, e posteriormente submetidos ao teste de médias e comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, por meio do software Sisvar 5.6.

**Tabela 2.** Escala diagramática de Huang e Hartman (1998).

NOTA	SEVERIDADE
1	Sem sintomas
2	Leve desenvolvimento dos sintomas com manchas e mosaico (1% a 20% da folhagem afetada)
3	Desenvolvimento moderado de sintomas com clorose e necrose internerval (21% a 50% da folhagem afetada)
4	Desenvolvimento de sintomas severos (51% a 80% da folhagem afetada)
5	Desenvolvimento de sintomas graves com clorose e necrose internerval e/ou plantas mortas (81% a 100% da folhagem afetada)

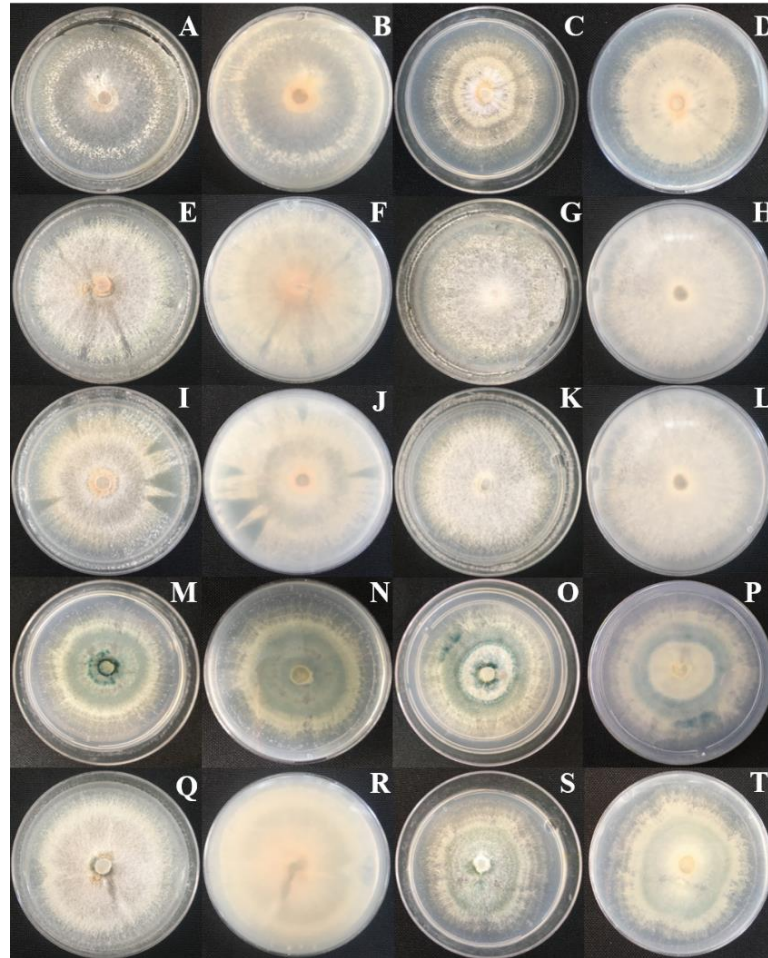
### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Obtenção dos isolados

Foi composta uma coleção de 17 isolados de *Fusarium solani*, obtidos de plantas de soja com sintomas de SDS (Tabela 1). Com base nas amostras coletadas observou-se que a doença afeta diferentes cultivares de soja, como: M 5917 (Monsoy), NS 7709 IPRO (Nidera) e Desafio RR (Brasmax). Esta última cultivar, em sua descrição, não é considerada uma cultivar suscetível, porém foram observados sintomas bem característicos da doença.

#### 3.2 Caracterização morfológica

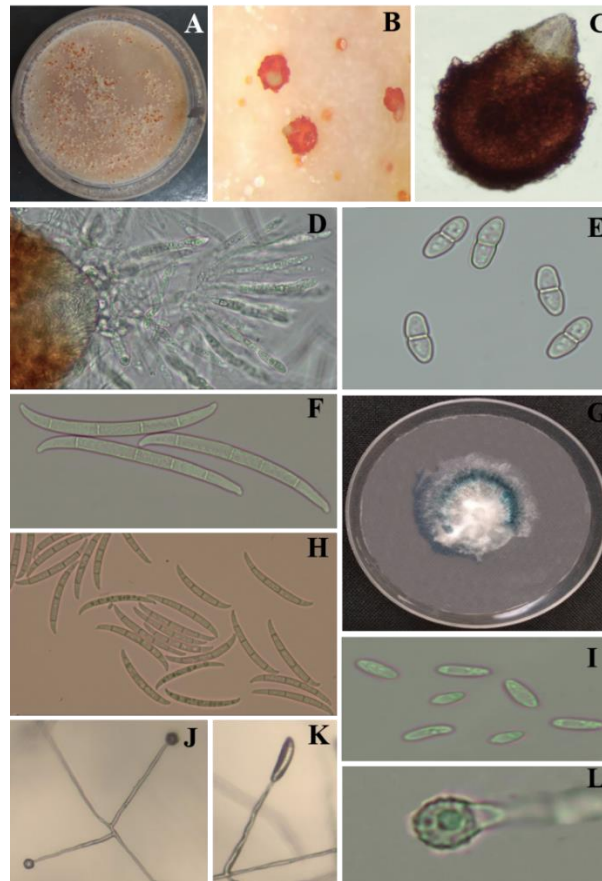
Os isolados avaliados apresentaram características morfológicas típicas das espécies do complexo *Fusarium solani* (FSSC) como monofiálides longas, conidióforos simples e ramificados, produção de conídios em falsas cabeças no micélio aéreo e em esporodóquio e presença de clamidósporos. Em BDA a 25 °C no escuro, foi observada variação na coloração de frente e verso das colônias: branco, creme e azulada. A coloração da esporulação também variou, creme e azulada (Figura 2).



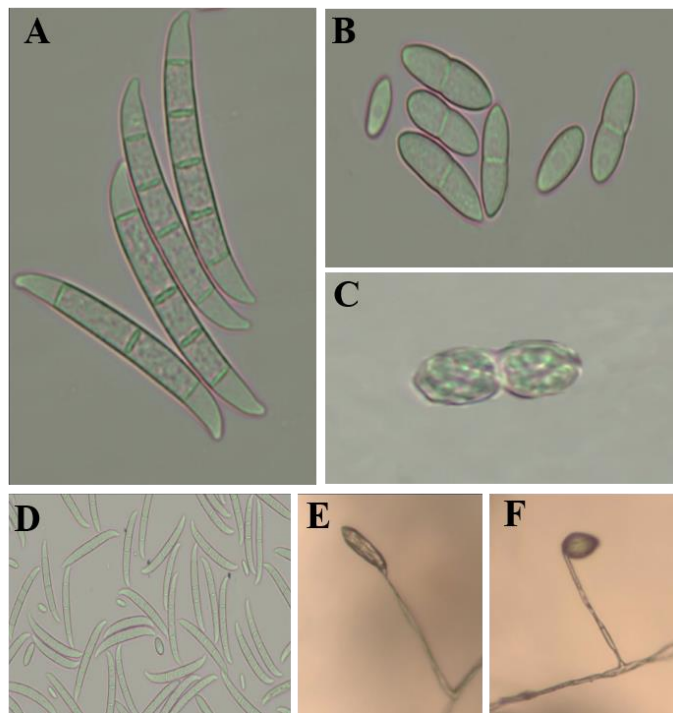
**Figura 2.** Cultura de isolados do FSSC em meio BDA. **A-B)** *F. crassistipitatum*, TY26; **C-D)** *F. tucumaniae*, TY55; **E-F)** *F. paranaense*, TY18; **G-H)** *F. paranaense*, TY49; **I-J)** *F. paranaense*, TY19; **K-L)** *F. paranaense*, TY40; **M-N)** *F. tucumaniae*, TY35; **O-P)** *F. tucumaniae*, TY67; **Q-R)** *F. paranaense*, TY01; **S-T)** *F. tucumaniae*, TY29.

A comparação das características morfológicas dos isolados de referência das espécies patogênicas a soja e dos isolados deste estudo é apresentada na tabela 2. O critério utilizado para a identificação dos isolados foi a morfologia dos conídios do esporodóquio e taxa de crescimento. Nenhum dos isolados apresentou conídios em forma de “vírgula”, marcador morfológico de *Fusarium virguliforme*, ou conídios curtos e volumosos como de *Fusarium solani* (FSSC 5). A taxa de crescimento considerado um dos fatores primordiais para diferenciá-los variou de 2.2 a 5.0 mm/dia em BDA escuro, a 25 °C, diferentemente de *Fusarium solani* (FSSC 5) e *F. pisi* (FSSC 11) cujas taxas de crescimento foram de 6.5–8.5 mm e 17 mm, respectivamente, segundo a literatura (Tabela 5). Com base no tamanho, na forma longa e afilada dos conídios do esporodóquio e na taxa de crescimento os isolados TY04, TY08, TY 10, TY13, TY14, TY29, TY35, TY55, TY65 e TY67 foram identificados com *F. tucumaniae* (Figura 3). O isolado TY26 foi identificado como *F. crassistiptatum* com base na taxa de

crescimento e forma do conídio que apresentam célula apical rostrada e basal levemente protuberante (Figura 4). Os isolados que apresentaram a taxa de crescimento superior a 4 mm/dia foram identificados como *Fusarium parnanse*, TY01, TY18, TY19, TY40 e TY49.



**Figura 3.** Caracteres morfológicos das fases sexuada e assexuada de *F. tucumaniae* A-C) Peritécios dos isolados CML 2450 x TY35 em meio de cultura CA; D-E) Ascus e ascósporos, barra= 10  $\mu$ m; F e H) Macroconídios do esporodóquio, barra= 10  $\mu$ m; G) Cultura em meio BDA; I) Microconídio, barra= 10  $\mu$ m; J) Falsas cabeças no micélio aéreo; K) Macroconídio no micélio aéreo, barra= 10  $\mu$ m; L) Clamidósporo rugoso, barra= 10  $\mu$ m.



**Figura 4.** Caracteres morfológicos da fase assexuada. *F. crassitipitum*: **A)** Macroconídios do esporodóquio, barra= 10  $\mu$ m; **B)** Microconídios, barra= 10  $\mu$ m; **C)** Clamidósporo em pares rugoso; **D)** Macroconídios, barra= 10  $\mu$ m; **E)** Macroconídio no micélio aéreo; **F)** Falsas cabeças no micélio aéreo.

### 3.3 Teste de homotalismo, determinação de *mating type* por PCR e teste de compatibilidade sexual

Nenhum dos isolados monospóricos produziram estruturas sexuais, sendo considerados todos heterotáticos. Dos nove isolados de soja identificados como *Fusarium tucumaniae* com base na morfologia, quatro foram identificados como idiomorfo *MATI-1* e cinco como idiomorfo *MATI-2* (Tabela 1). Cruzamentos férteis confirmaram a identidade dos isolados como *Fusarium tucumaniae*. Peritécios oriundos desses cruzamentos apresentaram-se vermelhos, solitários ou agregados, globosos, verrugosos, medindo 235 – 280 x 168– 203  $\mu$ m, com ápice agudo, medindo 23 – 62  $\mu$ m de comprimento e medindo 38 – 74  $\mu$ m de largura até a base. Ascus e ascósporos hialinos, mensurado, em média, 12 – 17,5  $\mu$ m de comprimento e 4 – 7,5  $\mu$ m de largura (Figura 3).

**Tabela 3.** Cruzamentos que produziram peritécios férteis entre isolados com morfotipo *F. tucumaniae*

<i>MATI-1</i>	<i>MATI-2</i>	<i>MATI-2</i>	<i>MATI-1</i>
TY10	TY14	TY35	TY4
TY10	TY29	TY35	TY67
TY10	TY65	TY35	CML 2450
CML 2450	TY14		
CML 2450	TY29		
CML 2450	TY35		
CML 2450	TY65		
TY4	TY14		
TY4	TY29		
TY4	TY35		
TY4	TY65		
TY67	TY29		
TY67	TY35		
TY67	TY65		
TY13	TY29		
TY13	TY08		

### 3.4 Patogenicidade

Aos 20 DAI, os sintomas mais severos a moderado de podridão vermelha radicular foram induzidos por todos os isolados avaliados. Os sintomas foliares foram induzidos por *F. tucumaniae* (TY35, TY55, MES 50) aos 30 DAI, incluindo manchas cloróticas e necróticas internervais severas e mosaico leve. Observou-se diferença na virulência dos isolados dessa espécie. O isolado TY55 induziu sintomas mais severos como clorose e necrose internerval e/ou plantas mortas, enquanto os isolados TY35 e MES 50 induziram mosaico e clorose internerval leve, respectivamente. O isolado CML 1891(NRRL 31773) não induziu sintoma foliar (Figura 5; Tabela 5).

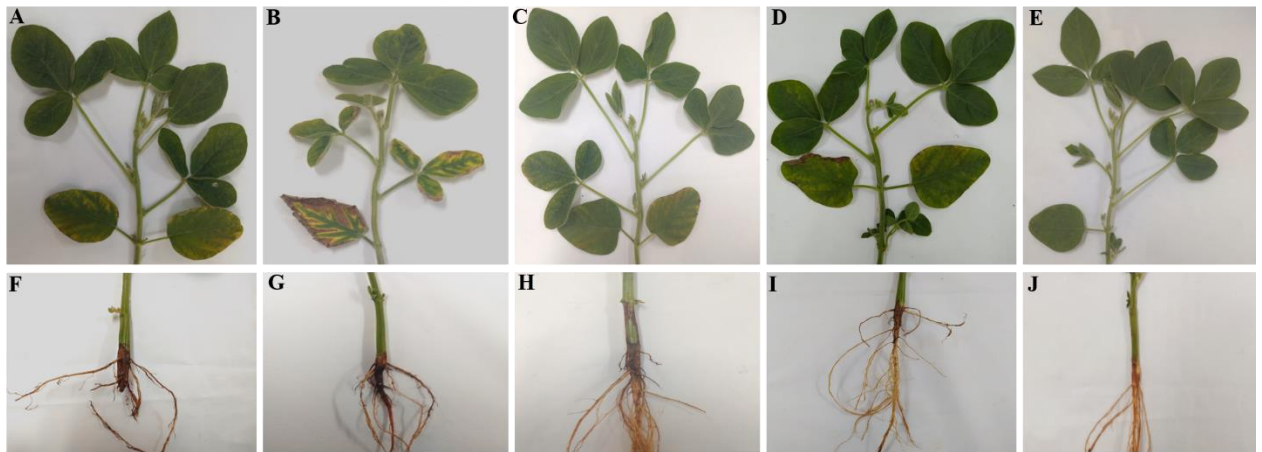
*F. crassistipitatum* (CML 1882) e *F. paranaense* (CML 1830 e CML 1837) não induziram sintoma foliar aparente (Figura 5). Os isolados deste estudo TY01, TY18, TY19, TY40 e TY49 e TY26, representantes das espécies *F. paranaense* e *F. crassistipitatum*, não induziram sintoma foliar característico de SDS. Nenhuma das testemunhas apresentaram sintomas (Tabela 4-5). A evolução dos sintomas de SDS induzidos por *F. tucumaniae* nas plantas inoculadas é apresentado na figura 6. Aos 30 DAI as plantas apresentaram clorose leve (Figura 6A), sendo este sintoma acentuado aos 35 DAI e com início de necrose (Figura 6B-C). Aos 40 DAI, as folhas apresentaram sintomas típicos de folha carijó com clorose e necrose internervais (Figura 6 D-E) e sintoma severo de podridão vermelha radicular (Figura 6F-G).

Houve diferença significativa entre os isolados de *F. tucumaniae*, *F. paranaense* e *F. crassistipitatum*, quanto a incidência e severidade da SDS, foram observados para os isolados de *F. tucumaniae* os maiores valores. Apenas os isolados de *F. tucumaniae* diferiram significativamente entre os intervalos de dias de avaliação após a inoculação.

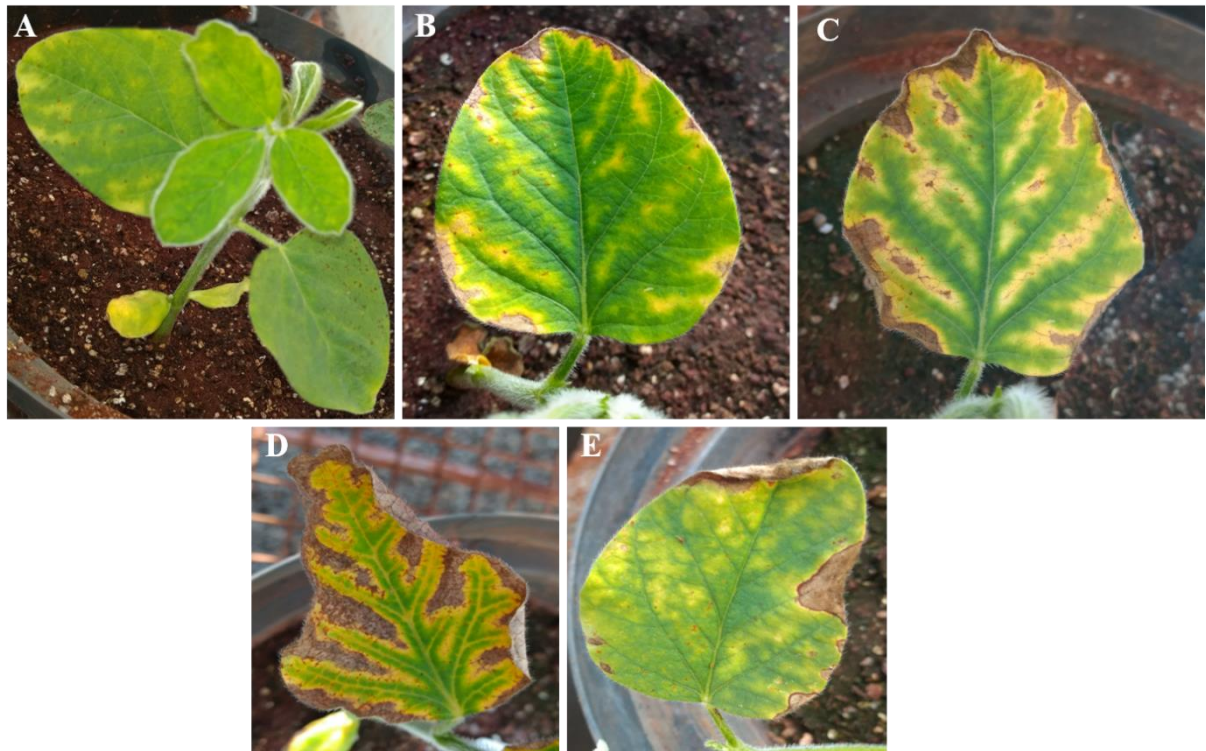
**Tabela 4.** Patogenicidade de espécies do FSSC em plantas de soja (*Glycine max*), avaliando incidência e severidade de SDS.

Espécie	Isolados	Incidência (%)			Severidade (%)		
		20 DAI	30 DAI	40 DAI	20 DAI	30 DAI	40 DAI
<i>F. tucumaniae</i>	TY35	0 Aa	40 Bb	100 Cc	0 Aa	6 Ba	24,20 Db
<i>F. tucumaniae</i>	TY55	0 Aa	100 Cb	100 Cc	0 Aa	24,2 Cb	27,16 Db
<i>F. tucumaniae</i>	CML 1891	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
<i>F. tucumaniae</i>	MES 50	0 Aa	40 Bb	100 Cc	0 Aa	6 Ba	15 Cb
<i>F. paranaense</i>	TY40	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
<i>F. paranaense</i>	TY01	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
<i>F. paranaense</i>	TY19	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
<i>F. paranaense</i>	TY49	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
<i>F. paranaense</i>	CML 1830	0 Aa	0 Aa	0 Bb	0 Aa	0 Aa	0 Bb
<i>F. paranaense</i>	CML 1837	0 Aa	0 Aa	0 Bb	0 Aa	0 Aa	0 Bb
<i>F. paranaense</i>	TY18	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
<i>F. crassistipitatum</i>	CML 1882	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
<i>F. crassistipitatum</i>	TY26	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
	Test	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna (entre isolados) e letras minúsculas iguais na linha (entre avaliações) não diferem entre si de acordo com o teste de Scott-Knott (5%).



**Figura 5.** Sintomas de SDS observados nas plantas inoculadas: **A-B)** Folha carijó com clorose e necrose internerval causada por *F. tucumaniae* (MES 50 e TY55); **C)** Clorose internerval causado por *F. paranaense* (CML 1837); **D)** Clorose internerval causado por *F. crassistipitatum*; **E)** Testemunha. Podridão vermelha radicular causada por: **F-G)** *F. tucumaniae*; **H)** *F. paranaense*; **I)** *F. crassistipitatum*; **J)** Testemunha.



**Figura 6.** Evolução dos sintomas de SDS induzidos por *F. tucumaniae* nas plantas inoculadas: **A)** Clorose leve, 30 DAI; **B-C)** Clorose acentuada com início de necrose, 35 DAI **D-E)** Clorose e necrose internerval, 40 DAI.



## 4 DISCUSSÃO

Neste trabalho, foram identificadas dois morfotipos do clado 2-FSSC, *F. tucumaniae*, *F. crassistipitatum* e uma do clado 3-FSSC, *F. paranaense*, em associação com plantas de soja com sintomas de SDS, oriundas dos principais estados produtores no Brasil. Esses morfotipos/espécies foram definidas com base na diferença do tamanho e formato dos conídios do esporodóquio e taxa de crescimento. Das espécies encontradas, somente *F. tucumaniae* induziu sintoma foliar típico de SDS.

As espécies do clado 2 -FSSC que causam SDS compartilham caracteres morfológicos como: a formação de dois tipos de conídios no micélio aéreo, cilíndrico a falcado, septados, produzidos em conidióforos longos e conídios clavados curtos, pequenos produzidos em conidióforos curtos. As espécies também produzem dois tipos de conídios esporodoquiais, um falcado, multisseptado, com diferenças sutis na célula pé e célula apical e o segundo tipo clavado, exceto *F. virguliforme* que produz conídios em forma de “vírgula”. *Fusarium brasiliense* é diferenciado pela produção de conídios dos esporodóquios que são cilíndricos e frequentemente arredondados nas extremidades, enquanto que *F. crassistipitatum* produz conídios com uma célula apical rostrada e pontiaguda e uma célula pé distinta. *Fusarium virguliforme* é diferenciado pela produção de conídios esporodoquiais na parte apical simétricos e basalmente com conídios em forma de “vírgula”. *F. tucumaniae* produz conídios esporodoquiais mais longos e estreitos em relação às outras espécies do clado 2 (Aolki et al. 2003; 2005; 2012). *Fusarium paranaense*, Clado 3-FSSC, produz três tipos de conídios, e os conídios esporodoquiais são semelhantes aos de *F. crassistipitatum* e *F. brasiliense*. No entanto, os conídios de *F. brasiliense* são mais arredondados na parte apical e basal e os *Fusarium crassistipitatum* são maiores com uma célula apical evidentemente mais pontuda (Costa et al. 2016). O crescimento lento distingue as espécies do clado 2-FSSC em relação as espécies dos outros clados do complexo de espécies *Fusarium solani*, cujo crescimento é rápido (Aolki et al. 2003; 2005; 2012).

Dentre os 17 isolados obtidos, a espécie *F. tucumaniae* predominou, sendo representada por 11 isolados de diferentes estados. O crescimento lento das espécies do clado 2 dificulta o seu isolamento a partir de material sintomático (Aoki et al., 2005). Desta forma, a metodologia de isolamento torna-se um fator primordial para a obtenção de isolados das espécies do clado 2- FSSC. Costa et al. (2016) utilizou a metodologia de desinfestação superficial das raízes de soja sintomáticas e obteve 50 isolados de *F. paranaense* e quatro de *F. tucumaniae*. Neste trabalho, as raízes de plantas de soja lavadas foram envolvidas em folhas de jornal umedecidas

e incubadas em geladeira a 10 °C, no escuro, e após quatro dias pode-se verificar a esporulação e formação de esporodóquios azulados característicos das espécies do clado 2.

A identidade dos isolados de *F. tucumaniae* definida através da morfologia foi confirmada por meio do conceito de espécie biológica. Cruzamentos férteis ocorreram entre os isolados obtidos e o de referência (CML 2450) e entre isolados da mesma área coletada e de diferentes áreas, sugerindo a possível ocorrência da fase sexuada em campo. Com base na falta de polimorfismo de nucleotídeos nos loci 44, 51, 65, 83, 96 e IGS rDNA, *F. virguliforme* e *F. crassistipitatum* provavelmente reproduzem exclusivamente assexuadamente (Aoki et al., 2012). Hughes et al. (2014) identificaram ambos idiomorfos entre os isolados de *F. brasiliense*, entretanto, os cruzamentos sexuais intraespecíficos não produziram peritécios, sugerindo que as condições para indução da fase sexuada foram inadequadas e / ou faltava uma coleção de isolados “femininos” férteis. Em teoria, *F. tucumaniae*, que se reproduz sexualmente, representa uma ameaça muito maior para a produção de soja porque tem maior probabilidade de suplantar a resistência neste hospedeiro, devido sua alta variabilidade genética (Scandiani et al., 2010; Aoki et al., 2012).

O ensaio *in vivo* evidenciou a patogenicidade dos de 17 isolados de *F. tucumaniae* obtidos neste estudo, pois estes induziram sintomas típicos de SDS, como o de folha carijó. Cada um dos isolados dessa espécie induziram sintomas que variaram de mosaico, clorose internerval leve e severa clorose internerval e necrose foliar. Entretanto, não se observou sintoma foliar típico de SDS nas plantas inoculadas com os isolados de *F. crassistipitatum* (CML 1882, TY26) e o isolado de referência de *F. tucumaniae* (CML 1891/NRRL 31773). Este resultado pode ser apresentado devido à perda de virulência e/ou perda da capacidade de produção da toxina que induz o sintoma típico de SDS (Aoki et al., 2005). *F. paranaense* não induziu sintoma foliar, como já havia sido relatado por Costa et al. (2016). Acredita-se, que cada espécie possa ter uma particularidade em relação ao ambiente favorável para o desenvolvimento dos sintomas, devido a diferenças observadas tanto na indução do sintoma de podridão radicular quanto da formação da folha carijó entre os isolados e espécies (Li et al., 2009).

Todos os isolados avaliados causaram sintoma de podridão na raiz nas plantas inoculadas. A diferença entre as espécies causadoras de PVR como *F. paranaense* (FSSC3+4), *F. solani* (FSSC 5) e *F. pisi* (FSSC 11) e as causadores da SDS como, *F. tucumaniae*, *F. virguliforme*, *F. brasiliense* e *F. crassistipitatum*, são promotores da fitotoxina que é produzida na raiz e transportadas pelos vasos da planta até as folhas. Em plantas infectadas por *F. tucumaniae* o conteúdo do pigmento da clorofila e o nível de rubisco foram reduzidos nas

folhas, principalmente em cultivares suscetíveis. Essa redução desencadeia uma regulação negativa dos genes envolvidos na biossíntese da clorofila e fotossíntese da planta, devido ao ataque do patógeno (Berger et al., 2004; Lobato et al., 2010).

Segundo Brar et al. (2011), pode ser possível que certos isolados sejam bons colonizadores de raízes, mas podem ou não ser bons produtores de toxinas e, inversamente, alguns isolados podem ser colonizadores de raízes relativamente ruins, mas podem ou não ser bons produtores de toxinas. É possível que haja bons colonizadores de raízes com poucos sintomas foliares, mas é menos possível que colonizadores ruins causem muitos sintomas foliares.

De acordo com os resultados *Fusarium virguliforme* e *F. brasiliense* não foram encontrados em campos de produção de soja no Brasil; mas sim, *F. tucumaniae*, *F. crassistipitatum* e *F. paranaense*, as quais estão associadas com plantas de soja com sintomas de SDS. Os isolados encontrados se comportaram de modo diferente quanto a indução e a severidade dos sintomas; quando inoculadas, somente alguns isolados de *F. tucumaniae* induziram sintoma típico de folha carijó. Essa espécie já foi relatada nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Minas Gerais (Aoki et al., 2005; Costa et al., 2016). No presente trabalho, ela foi encontrada novamente em Minas Gerais, e no estado de Goiás. Além das espécies encontradas, *F. brasiliense* já foi relatada no Brasil (Aoki et al., 2015), mas com base na morfologia, esta não foi identificada. Apesar dos marcadores morfológicos apresentados pelas espécies que causam doença em plantas de soja permitam distingui-las, a plasticidade morfológica existente, principalmente nas espécies que se reproduzem sexuadamente como *F. tucumaniae* e *F. paranaense*, pode levar a erros de identificação. Portanto, a aplicação do conceito de espécie filogenética é essencial para uma diagnose acurada. Além disso, estudos epidemiológicos são requeridos para determinar quais as condições ambientais ideais para o desenvolvimento ideal da SDS em condições de campo para cada uma das quatro espécies causadoras de SDS.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos o apoio do CNPq no desenvolvimento deste trabalho, e pela concessão de bolsa de pesquisa. A todos os membros do Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos da UFLA. Agradecemos também a todos os produtores pelo envio de material para a execução do trabalho.

## REFERÊNCIAS

- Aoki, T. et al. (2003). Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex - *F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. *Mycologia* 95: 660-684.
- Aoki T, O'Donnell K, Scandiani MM (2005) Sudden death syndrome of soybean in south America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. *Mycoscience* 46: 162-183.
- Aoki T, Scandiani M, O'Donnell K. (2012). Phenotypic, molecular phylogenetic, and pathogenetic characterization of *Fusarium crassistipitatum* sp. nov., a novel soybean sudden death syndrome pathogen from Argentina and Brazil. *Mycoscience* 53: 167–186.
- Anderson TR, Tenuta AU, (1998). First report of *Fusarium solani* f.sp. *glycines* causing sudden death syndrome of *soybean* in Canada. *Plant Disease* 82: 448.
- Berger S, Papadopoulos M, Schreiber U, Kaiser W, Roitsch T (2004) Complex regulation of gene expression, photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato, *Physiol. Plant.* 122: 419–428.
- Botta G, Ivancovich A, Annone J (1993) Respuesta de Cultivares al Síndrome de la Muerte Repentina de la Soja. *Carpeta de Produccion Vegetal. Tomo XII, Soja. Informacion no. 113.* Argentina: EEA-INTA Pergamino.
- Brar HK, Swaminathan S, Bhattacharyya MK (2011) The *Fusarium virguliforme* toxin FvTox1 causes foliar sudden death syndrome-like symptoms in soybean, *Mol. Plant Microbe Interact.* 24: 1179–1188.
- Chang HX, Domier LL, Radwan O, Yendrek CR, Hudson ME, Hartman GL (2016) Identification of multiple phytotoxins produced by *Fusarium virguliforme* including a phytotoxic effector (FvNIS1) associated with sudden death syndrome foliar symptoms, *Mol. Plant Microbe Interact.* 29:96–108.
- Covert SF, Aoki T, O'Donnell K, Starkey D, Holliday A, Geiser DM, Cheung F, Town C, Strom A, Juba J, Scandiani MM, Yang XB (2007). Sexual reproduction in the soybean sudden death syndrome pathogen *Fusarium tucumaniae*. *Fungal Genetics and Biology* 44: 799-807.
- Chitrapalam P, Nelson JR. B. (2016) Multilocus phylogeny reveals an association of agriculturally important *Fusarium solani* species complex (FSSC) 11, and clinically important FSSC 5 and FSSC 3+ 4 with soybean roots in the north central United States. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 109, n. 2: 335-347.
- Costa SS, Matos KS, Tessmann, DJ, Seixas CDS, Pfenning LH (2016) *Fusarium paranaense* sp. nov., a member of the *Fusarium solani* species complex causes root rot on *soybean* in Brazil. *Fungal Biology*, v. 120, n. 1: 51-60.

Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (2002). Tecnologia de produção de soja na região Central do Brasil. Londrina.

Freitas TMQ (2004) Dano devido à podridão vermelha da raiz na cultura da soja. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 4, p: 991-996.

Farias Neto AL, Hartman GL, Pedersen WL, Li S, Bollero GA, Diers BW (2006) Irrigation and inoculation treatments that increase the severity of soybean sudden death syndrome in the field. *Crop Science*, v. 46, p: 2547-2554.

Gongora-Canul C, Leandro L (2011) Plant age affects root infection and development of foliar symptoms of *soybean* sudden death syndrome. *Plant Disease* 95: 242–247.

Gongora-Canul C, Nutter FJ, Leandro L (2012). Temporal dynamics of root and foliar severity of *soybean* sudden death syndrome at different inoculum densities. *European Journal of Plant Pathology* 132: 71–79.

Huang, YH, Hartman GL (1998) Reaction of selected soybean genotypes to isolates of *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, and their culture filtrates. *Plant Dis.* 82: 999-1002.

Hughes TJ, O'Donnell K, Sink S, Rooney AP, Scandiani MM, Luque A, Bhattacharyya MK, Huang, X. (2014) Genetic architecture and evolution of the mating type locus in fusaria that cause soybean sudden death syndrome and bean root rot. *Mycologia* 106: 686-697.

Hartman, G. L. et al. (1997) Germplasm evaluation of *Glycine max* for resistance to *Fusarium solani*, the casual organism of sudden death syndrome. *Plant Disease*, [S.1], v. 81, n. 5:515-518.

Hirrel MC (1983) Sudden soy death syndrome - A disease of unknown etiology. (Abstr.) *Phytopathology* 73: 501.

Ivancovich A, Botta G, Annone J (1992) Síndrome de la Muerte Repentina en Cultivos de Soja en el Area de la EEA Pergamino. *Carpeta de Produccion Vegetal*. Tomo XI, Soja. Argentina: EEA-INTA Pergamino. Informacion no. 94.

Ji J, Scott MP, Bhattacharyya MK (2006) Light is essential for degradation of ribulose1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase large subunit during sudden death syndrome development in soybean, *Plant Biol. (Stuttg.)* 8: 597–605.

Leslie JF, Summerell BA (2006) *The Fusarium laboratory manual*. Malden, USA: Blackweel Publishers.

Li S, Hartman GL, Chen Y (2009) Evaluation of aggressiveness of *Fusarium virguliforme* isolates that cause soybean sudden death syndrome. *Journal of Plant Pathology* 91:77-86.

Lobato ASK, Gonçalves-Vidigal MC, Vidigal Filho PS, Andrade CAB, Kvitschal MV, Bonato CM (2010) Relationships between leaf pigments and photosynthesis in common bean plants infected by anthracnose, *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.* 38: 29–37

Matos KS (2014) Diversidade de espécies filogenéticas e biológicas do complexo de *Fusarium solani*-FSSC no Brasil. Lavras, Minas Gerais: Universidade Federal de Lavras, tese de doutorado.

Nakajima T, Mitsueda T, Charchar MJD (1993) Occurrence of soybean sudden death syndrome caused by *Fusarium solani* in Brazil. In: Nelson PE, ed. Seventh International *Fusarium* Workshop. University Park, PA, USA: Pennsylvania State University Press, 79.

Navi S, Yang X (2008) Foliar symptom expression in association with early infection and xylem colonization by *Fusarium virguliforme* (formerly *F. solani* f. sp. *glycines*), the causal agent of soybean sudden death syndrome. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2008-0222-01-RS.

O'Donnell K, Sink S, Scandiani MM, Luque A, Colletto A, Biasoli M, Lenzi L, Salas G, González V, Ploper LD, Formento N, Pioli RN, Aoki T, Yang XB, Sarver BAJ (2010) Soybean sudden death syndrome species diversity within North and South America revealed by multilocus genotyping. Phytopathology 100: 58-71.

Ploper D (1993) Síndrome de la muerte súbita: nueva enfermedad de la soja en el noroeste argentino. Avance Agroindustrial Año 13(54): 5– 9

Scandiani M, Aoki T, Luque AG, Carmona MA, O'Donnell K (2010). First Report of Sexual Reproduction by the Soybean Sudden Death Syndrome Pathogen *Fusarium tucumaniae* in Nature. Plant Dis. 94:1411-1416.

Teixeira AB, Freitas MA, Ananias-Filho N, Café-Filho AC (1998) Constatação de *Fusarium solani* f.sp. *glycines* (síndrome da morte súbita) em áreas de Goiás, Distrito Federal e Minas Gerais. Fitopatologia Brasileira 23: 286.

Roy KW (1997) Sporulation of *Fusarium solani* f. sp. *glycines*, the causal agent of sudden death syndrome, on soybean plants symptomatic for the disease in the midwestern and southern United States. Plant Disease 81: 566-569.

Rupe, JC, Hirrel MC, Hershman, DE (1999) Sudden death syndrome. In: Hartman GL. et al. Compendium of soybean diseases. 4.ed. St. Paul: Aps: 37-39.

Tuite J (1996) Plant pathology methods. Fungi and Bacteria. Minneapolis: Burgess Publishing Co.

Tewoldemedhin YT, Lamprecht SC, Geldenhuys JJ, Kloppers FJ (2014) First report of sudden death syndrome in soybean caused by *Fusarium virguliforme* in South Africa. *Plant Dis.* 98: 569

Tewoldemedhin YT, Lamprecht SC, Vaughan MM, Doehring G, O'Donnell K (2017) Soybean SDS in South Africa is Caused by *Fusarium Brasiliense* and a Novel Undescribed *Fusarium* sp. *Plant Disease* 101 (1): 150-157.

Yorinori JT, Charchar MJA, Nasser LCB, Henning AA (1993) Doenças da soja e seu controle. In: Arantes NE, Souza PIM, eds. *Cultura da Soja nos Cerrados*. Piracicaba, SP, Brazil: POTAFOS: 333–97.

## MATERIAL COMPLEMENTAR

**Tabela 1S.** Comparação dos caracteres morfológicos dos isolados obtidos de plantas de soja com sintoma de SDS e das espécies do FSSC que causam doença na soja.

Isolados	Conídio do micélio aéreo			Conídio do esporodóquio			Clamidósporo		Fiálide <sup>a</sup>	Taxa de Crescimento (mm)	Coloração da colônia em BDA	Referência
	Forma	Tamanho (µm)	Septos	Forma	Tamanho (µm)	Septos	Forma	Tamanho (µm)				
TY 01	Oval, obovóide e reiniforme	10-22.5 x 2.5-5	0-1	Célula pé e apical simétricos, sem diferenciação entre a célula pé e apical	25-47.5 x 5	3-5	-	-	S/R	4.5 x 4.3	Esbranquiçada a azulada	Deste estudo
TY 04	Oval	5-7.5 x 2.5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	52.5-65 x 5	3-5	-	-	S/R	2.2 x 2.5	Esverdeada a azulada	Deste estudo
TY 08	Globoso e oval	2.5 x 2.5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	57.5-87.5 x 5	3-6	-	-	S/R	2.5 x 2.5	Esverdeada a azulada	Deste estudo
TY 10	Oval	2.5-10 x 2.5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	55-72.5 x 5	3-5	Rugoso	-	S/R	2.5 x 3	Esverdeada a azulada	Deste estudo
TY 13	Oval	5-10 x 2.5-5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	55-70 x 5	3-5	Rugoso	-	S/R	2.2 x 2.4	Esverdeada a azulada	Deste estudo
TY 14	Oval	5-10 x 2.5-5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	50-72.5 x 5	4-6	Rugoso	-	S/R	2.3 x 2.6	Esverdeada a azulada	Deste estudo
TY18	Oval, elipsoide	10-22.5 x 2.5-5	0 - 1	Célula pé e apical simétricos, sem diferenciação entre a célula pé e apical	27.5 – 40 x 5	3-5	Liso	-	S/R	4.4 x 4.5	Esbranquiçada a creme	Deste estudo
TY 19	Oval, piriforme e reiniforme	10-25 x 5	0-2	Célula pé e apical simétricos, sem	40-55.5 x 5	4-5	Liso e rugoso	-	S/R	4.9 x 4.8	Esbranquiçada a creme	Deste estudo



TY 26	Oval e obovóide	7.5-22.5 x 2.5-5	0-1	diferenciação entre a célula pé e apical Célula apical rostrada e basal levemente protuberante	35-55 x 5	3-4	Rugoso, solitário	10 x 7,5	S/R	2.5 x 3	Esbranquiçada a creme	Deste estudo
TY 29	Oval e Globoso	2.5-10 x 2.5-5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	57.5-67.5 x 5	3-4	-	-	S/R	3 x 2.4	Esbranquiçada a creme	Deste estudo
TY 35	Oval	2.5-5 x 2.5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	57.5-85 x 5	4-5	-	-	S/R	2.3 x 2.4	Esverdeada a azulada	Deste estudo
TY 40	Oval, obovóide e reiniforme	7.5-25 x 2.5-5	0-3	Célula pé e apical simétricos, sem diferenciação entre a célula pé e apical	37.5-47.5 x 5	3-5	-	-	S/R	4.2 x 4.2	Esbranquiçada a creme	Deste estudo
TY 49	Oval	10-22.5 x 2.5-5	0-1	Célula pé e apical simétricos, sem diferenciação entre a célula pé e apical	34.5-45 x 5	3-5	Liso, solitário no meio da hifa e na ponta e múltiplos no restante.	5-10 x 7,5-10	S/R	5 x 4.3	Esbranquiçada	Deste estudo
TY 55	Oval, obovóide	2.5-7.5 x 2.5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	55-72.5 x 5	4-5	-	-	S/R	2.2 x 2.3	Esbranquiçada a creme	Deste estudo
TY 65	Oval	2.5-5 x 2.5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	65-72.5 x 5	3-5	Rugoso, solitário, duplo no meio da hifa	3.75-10 x 5-12.5	S/R	2.5 x 2.3	Esbranquiçada a creme	Deste estudo
TY 67	Oval	2.5-5 x 2.5	0	Longos e afilados, com célula pé e apical simétricos, pouco acentuada, discreta.	65-72.5 x 5	3-5	Rugoso, solitário	-	S/R	2.4 x 3	Esbranquiçada a azulada	Deste estudo
<i>F. tucumaniae</i>	Cilíndrico a falcado, septado, em conidióforos altos, clavado curto, principalmente aseptato	3.5 – 18.5 x 2- 2.5	0-1	Longos e estreitos	>60 x >5	3-6	Subglobosos, liso e rugoso, solitário, terminais, únicos, raramente em cadeias	9-13 x 8.5-12.5	S/R	1.7–2.3	esverdeada a azulada	Aoki et al. 2003

<i>F. virguliforme</i>	Cilíndrico a falcado, septado, em conidióforos altos, clavado curto, principalmente aseptato e em forma de vírgula	2- 2.5 x 1.5-3.5	0-1	Falcado, célula apical e basal simétricos e em forma de vírgula	50-60 x 5-5.5	3-5	Subglobosos, lisos e rugosos, intercalares ou terminal, solitários ou em cadeias	4 -15	S/R	1.5-3.0	lilás a azulada	Aoki et al. 2003
<i>F. brasileiense</i>	Cilíndrico a falcado, septado, em conidióforos altos, clavado curto, principalmente aseptato	4-12.5 x 2-3.5	0-1	Cilíndricos com extremidades arredondadas	45-60 x 5-5.5	3-6	Formados com frequência nas hifas, subglobosos, às vezes oblongos ou curvo, terminal ou intercalar, solitários ou	7,5-15 x 5-12,5	S/R	2.2-2.8	esverdeada a azulada	Aoki et al. 2005
<i>F. crassistiptatum</i>	Falcado, clavados curtos a elipsoidais	4.5-8.5 x 2-3	0-1	Célula apical rostrada e célula apical e basal levemente protuberante	43-69.5 x 4-6	3-6	subglobosas, terminal, frequentemente solitário, raramente múltiplos, lisos e rugosos	6.5-17.5 x 5-13.5	S/R	1.8-2.9	esbranquiçada a amarelada	Aoki et al. 2011
<i>F. paranaense</i> FSSC 3+4	Obovoide, elipsoidal, reniforme, falcado, com célula apical rostrada e a célula basal do pé ligeiramente protuberante e cilíndrico para fusiforme	12-37.5 x 2.5-5	0-5	Falcado, com célula apical rostrada e a célula basal ligeiramente protuberante, cilíndrico para fusiforme	27-55 x 4-6 (4 septos)	3-5	Subgloboso, formado em hifa e em conídios		S/R	2.0 - 4.5	branca a amarela pálido, às vezes com tonalidade verde acinzentada	Costa et al. 2016
<i>F. falcifome</i> FSSC 3+4	Elipsoidal para alantóide	4.7-41.8 x 3.1-9.4	0-1	Falcado, curto e volumoso	41.7-46.9 x 5.9-6.1	3-4	Globoso	8-10	S	0.79		Sandoval-Denis & Crous 2018
FSSC 5	Elipsoidal para falcate	2.5-12.7	0-5	Falcado ligeiramente curvado e mais curvado na ponta, base pedicelada	24-56 x 2-8	3-5	Globoso	6.5-8.5	S	6.5-8.5	amarela para salmão pálido	Schroers et al. 2016
FSSC 11	Evóide ou com ápice arredondado e base truncada	2.5-12.7 x 1.5-2.1	0	Ligeiramente curvo com uma célula apical arredondada e célula basal em forma de cunha	4.3-46.1 x 5.4-6.2	2-4	-	-	S	17	branca	Sisc et al. 2018

---

fracamente  
pedicelada

---

<sup>a</sup>Monofiálide simples = S; Monofiálide ramificada = R