

AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE *PHOMA* EM MUDAS DE SOJA (*GLYCINE MAX.* Var. CONQUISTA)

Fernanda Maria Rodrigues Castro

Agrônoma - Universidade Federal de Lavras-UFLA
e-mail: fefernandacastro@hotmail.com.

Ludwig H. Pfenning

Professor Doutor do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras -UFLA

Mírian Salgado

Pesquisadora do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras-UFLA

Ana Karla Miranda de Freitas Machado

Bióloga. Mestranda do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras-UFLA

Recebido em: 30/10/2012

Aprovado em: 14/11/2012

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo investigar a causa de lesões necróticas em folhas de soja, caracterizar o patógeno causador das lesões e verificar a patogenicidade dos isolados por meio do Postulado de Koch. Foram obtidos isolados a partir de lesões necróticas típicas de *Phoma* de folhas de soja coletadas nos estados de Mato Grosso e Minas Gerais. Culturas puras foram obtidas em extrato de malte 2%, a partir de picnídios presentes nas folhas. A identificação dos isolados foi realizada de acordo com o Manual de Identificação de *Phoma* (BOEREMA *et al*, 2004). Foram selecionados 10 isolados de *Phoma*, separados em 3 grupos de morfotipos distintos. Para o teste de patogenicidade foram plantadas mudas de soja cultivar *Conquista* até atingir o estágio com três trifólios (3V). As mudas foram inoculadas com suspensão de 10^6 conídios mL⁻¹, cobertas com sacos plásticos transparentes e acondicionadas em câmara de crescimento vegetal a 20°C e fotoperíodo de 12 horas. Os sintomas foram avaliados no 3°, 6°, 9° e 12° dia após a inoculação. Utilizou-se delineamento, inteiramente ao acaso, com cinco repetições e dois tratamentos. Os isolados obtidos a partir de lesões necróticas de folhas de plantas de soja, apesar de apresentarem inóculos viáveis, após sua inoculação não induziram sintomas típicos de Mancha de *Phoma*. Alguns fatores podem ser destacados como inibidores de sintoma, como: temperatura não favorável ao desenvolvimento do fungo; cultivar utilizada ser resistente ao fungo inoculado; momento de inoculação não ser realizado no estágio de desenvolvimento em que a planta apresenta sintomas.

Palavras-chave: Lesões necróticas. Soja. Patogenicidade.

EVALUATION OF ISOLATES PATHOGENICITY OF *PHOMA* IN SOYBEAN SEEDLINGS (*GLYCINE MAX.* Var. CONQUISTA).

ABSTRACT

The present study aimed to investigate the cause of necrotic lesions on soybean leaves, characterize the causer pathogen of lesions and verify the pathogenicity of isolates through Koch's Postulate. Isolates were obtained from soybean leaves with necrotic lesions typical of *Phoma* collected in the states of Mato Grosso and Minas Gerais. Pure cultures were obtained in malt extract 2%, from pycnidia present in the leaves. The isolates identification was carried out according to the *Phoma* Identification Manual (Boerema *et al*, 2004). We selected 10 isolates of *Phoma* separated into 3 distinct groups of morphotypes. For the pathogenicity test, seedlings of soybean cultivar Conquista were planted until to reach the three clover stage (3V). The seedlings were inoculated with 10^6 conidia mL⁻¹, covered with transparent plastic bags and placed in a growth room at 20 ° C and 12 hours photoperiod. The symptoms were evaluated on the 3rd, 6th, 9th and 12th days after inoculation. We used a completely randomized design with five replications and two treatments. The isolates obtained from necrotic lesions in leaves of soybean plants in spite of presenting inocula viable after inoculation did not induced typical *Phoma* Stain symptoms. Some factors can be highlighted as inhibitors symptom such as temperature not favorable to the fungal growth; cultivar is resistant to the inoculated fungus; moment of inoculation not be done at the stage of development when the plant shows symptoms.

Keywords: Necrotic lesions. Soybean. Pathogenicity.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo com uma média de produtividade de 2830 kg por hectare, chegando a produzir 3000 kg por hectare no estado do Mato Grosso, que é o maior produtor do país. Sendo assim, essa cultura desempenha um papel econômico de grande importância. Por ser uma monocultura e estar em expansão, a preocupação com pragas e doenças que possam afetá-la é sempre um fator a ser levado em consideração, para que seja feito um controle eficiente e que, assim, perdas sejam evitadas. (EMBRAPA, 2008).

Existem várias doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides que já foram identificadas na soja (EMBRAPA, 2008). Porém, plantas de soja nos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais foram encontradas com necrose foliar no ano de 2010, com sintomas característicos de manchas causadas por *Phoma*. A mancha de *Phoma* pode ser observada em várias culturas de vários continentes (AVESKAMP *et al*, 2008), podendo ser identificada com a sintomatologia de Mancha de *Phoma*, Mancha de *Ascochyta* (*Ascochyta* blight), segundo Chilvers *et al* (2008).

Boerema *et al* (2004) consideram que o gênero *Phoma* é caracterizado por fungos filamentosos que produzem conidiomas tipo picnídios, conídios hialinos unicelulares e monofialide. É considerado cosmopolita por ter alta produção de conídios e rápida taxa de

crescimento com uma vasta gama de hospedeiros e ocorre em diversas culturas de importância econômica.

De acordo com Irinyi (2009), o principal agente etiológico da Mancha de *Phoma* em soja é a *Phoma pinodella* (= *Phoma sojicola*), porém este estudo foi realizado, principalmente, com isolados da Europa. No Brasil, o agente causal desta doença para a cultura da soja, segundo o manual da Embrapa é: *Phyllosticta sojicola*, *Ascochyta sojiae*. (EMBRAPA, 2008). Atualmente, são isolados fungos do gênero *Phoma* associados à parte aérea das plantas de soja com sintomas típicos para essa doença, sem a identificação do agente etiológico e sem manejo de controle adequado.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de:

- i. investigar a causa de lesões necróticas em folhas de soja;
- ii. caracterizar o patógeno causador de lesões em soja;
- iii. verificar a patogenicidade dos isolados por meio do Postulado de Koch.

A identificação do agente etiológico desta doença no Brasil será importante para dar subsídios a pesquisas para o desenvolvimento de medidas de controle eficientes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Soja

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma espécie que teve como centro de origem a costa Leste da Ásia, mais precisamente a China Antiga. Teve sua introdução no Ocidente com a chegada dos navios europeus, no final do século XV. (CÂMARA, 1998).

Na América, foi relatada a primeira vez nos Estados Unidos (EUA) em 1804, porém sua expansão como uma cultura de importância alimentícia e econômica só ocorreu a partir de 1930. No Brasil, foi introduzida na Bahia em 1882. (CÂMARA, 1998).

Aos poucos, a soja foi ganhando espaço e é hoje uma das principais culturas estabelecidas no Brasil, considerado hoje o segundo maior produtor do grão. A sua importância na dieta alimentar, tanto humana quanto animal, como um produto rico em proteínas e com subprodutos de grande valor econômico, fez com que a soja ganhasse destaque no cenário mundial.

De acordo com dados disponibilizados pela Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), o estado do Mato Grosso lidera o ranking de produção nacional de soja, com um volume estimado de 18,65 milhões de toneladas, seguido do Paraná com 13,28 milhões. (O GLOBO, 2010).

Um dos fatores que limita a produção de soja é a grande incidência de doenças na cultura. Por ser cultivada em grande escala, no sistema de monocultivo, com cultivares de pouca variabilidade genética, os estudos voltados às medidas de controle de doenças se tornam cada vez mais necessários para otimizar a aplicação de defensivos e para descobrir rotas alternativas de controle, para que as perdas anuais na colheita, que podem ser estimadas em cerca de 15 a 20%, sejam reduzidas de forma significativa. (EMBRAPA, 2008).

Dentre os agentes causadores de doenças na soja estão: fungos, bactérias, vírus e nematoides, sendo que o grau de relevância de cada doença vai variar de acordo com a região e com as condições climáticas de cada safra.

Neste trabalho, daremos ênfase à doença fúngica causada pelo gênero *Phoma*, caracterizada como Mancha de *Phoma* ou Mancha de *Ascochyta*, responsável por causar lesões necróticas na parte aérea da soja.

2.2 *Phoma*

O gênero *Phoma* consiste em um grupo de fungos geograficamente difundido e que é encontrado em numerosos nichos ecológicos. Sua abundante produção de conídios, juntamente com uma taxa de reprodução relativamente alta e uma capacidade de invasão de um grande número de hospedeiros e substratos, são os principais motivos que justificam sua distribuição cosmopolita. (AVESKAMP *et al*, 2008).

Apesar de o gênero *Phoma* envolver espécies oportunistas e saprófitas, este também possui espécies patogênicas que têm sido associadas a culturas de grande importância econômica, causando significativas perdas financeiras tanto na colheita quanto em negociações de importação e exportação de produtos, devido a restrições no intuito de prevenir a introdução de um possível patógeno quarentenal de espécies de *Phoma*, como *P. favoeta* (*P. exígua* var. *favoeta*) na América do Sul. (AVESKAMP *et al*, 2008).

Alguns casos específicos, como o uso do patógeno *Phoma clematidina* como agente de controle biológico contra plantas invasoras da espécie *Clematis vitalba* na Nova Zelândia, demonstram que alguns patógenos podem ser úteis como forma alternativa de controle de plantas daninhas em algumas culturas. (WOUDENBERG *et al*, 2009).

2.2.1 Divisão do gênero

Espécies de *Phoma* têm sido definidas como fungos filamentosos que produzem picnídios com monofiálide em forma de balão. *In vitro*, os conídios hialinos são principalmente unicelulares, contudo, em algumas espécies, ocorre uma pequena porcentagem de conídios septados transversalmente. (AVESKAMP *et al*, 2008 *apud* BOEREMA *et al*, 2004).

O gênero *Phoma* é geralmente considerado pela maioria dos micologistas como sendo taxonomicamente complexo, devido aos critérios morfológicos serem ambíguos e as afinidades filogenéticas serem variáveis. Essa complexidade taxonômica é um fator que dificulta a identificação e diferenciação dos membros do gênero. (AVESKAMP *et al*, 2008).

Atualmente, o gênero *Phoma* foi dividido em nove seções: *Phoma*, *Hetereospora*, *Phyllostictoides*, *Sclerophomella*, *Plenodomus*, *Macrospora* e *Pilosa* (BOEREMA *et al*, 2004), indicando que anamorfos de *Phoma* representam um grupo polifilético. (AVESKAMP *et al*, 2010; GRUYTER *et al*, 2009).

Nesse sistema, a maioria das seções é classificada baseando-se em espécies que possuem caracteres morfológicos que implicam alguma relação evolutiva ou por espécies que compartilham um teleomorfo do mesmo gênero. (AVESKAMP *et al*, 2008, 2010).

Numerosos isolados de *Phoma* têm sido identificados e caracterizados usando principalmente caracteres morfológicos *in vitro*. Como em outros gêneros de fungos, esses caracteres incluem: taxa de crescimento e padrões em diferentes meios de ágar, tamanho e forma de conidiomata e conídio, clamidósporos, além de produção de metabólitos. (AVESKAMP *et al*, 2008 *apud* BOEREMA *et al*, 2004).

Atualmente, técnicas moleculares têm contribuído muito, em adição ao critério morfológico convencional, para realizar análises filogenéticas dentro do gênero *Phoma*. (AVESKAMP *et al*, 2010; GRUYTER *et al*, 2009; IRINYI *et al*, 2009).

2.3 Relação entre a Mancha *Phoma* e a cultura da soja

Diferentes espécies de fungos com presença de picnídios foram associados a manchas em folhas e vagens de soja em diversas partes do mundo. Algumas espécies de *Phoma* foram identificadas como patógenos específicos em soja, como: *Phoma pinodella* (= *Phoma sojicola*) e *Phoma exigua* var. *exigua* (= *Phyllosticta sojicola*). (IRINYI *et al*, 2009).

Testes de patogenicidade têm confirmado que a espécie patogênica *Phoma pinodella* (= *Phoma sojicola*) causa manchas necróticas características em plantas de soja e se diferencia da *P.*

exigua var. *exigua* devido ao crescimento regular da colônia, presença de clamidósporos e reação negativa ao teste de NaOH. (GRUYTER *et al*, 2009; KÖVICS *et al*, 1999; IRINYI *et al*, 2009).

Foram encontradas no Mato Grosso e em Minas Gerais folhas de soja apresentando sintomas característicos de Mancha de *Phoma*. Devido à falta de literatura especializada sobre esse patossistema no Brasil, percebeu-se a importância de se desenvolver estudos mais detalhados sobre essa doença.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção de isolados e estudo morfológico

Folhas de soja com manchas necróticas típicas de *Phoma* foram coletadas em Minas Gerais e Mato Grosso no período de 2010. Culturas puras foram obtidas em extrato de malte 2% (MA2%: 20g de extrato de malte, 18g de ágar, 1L água) a partir de picnídios presentes nas folhas.

A caracterização dos isolados foi realizada de acordo com o Manual de Identificação de *Phoma*. (BOEREMA *et al*, 2004). As colônias foram cultivadas em MA4% e em meio de aveia (OA; 20g de aveia, 18g de ágar, 1L água), a 22°C e fotoperíodo de 12 horas. Após sete e quinze dias de crescimento em MA4%, mediu-se o diâmetro e avaliou-se a coloração das colônias e a presença de clamidósporos. Os isolados estudados foram depositados na Coleção Micológica de Lavras (CML) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

3.2 Caracterização morfológica e seleção dos isolados

Foram selecionados 10 isolados de *Phoma* separados em 3 grupos de morfotipos distintos, obtidos de manchas das folhas de soja (*Glycine Max*) em campos de cultivo no Mato Grosso e em Minas Gerais. Com base nas características morfológicas dos isolados estudados, foi selecionado um morfotipo de cada grupo para avaliar a patogenicidade TAB.1, (FIG. 1 e FIG. 2). O critério utilizado para a seleção dos isolados foi o material estar apto para a inoculação, 14 dias de crescimento em ágar com 10^6 conídios ml/L, total de 4 isolados.

Figura 1 - Morfotipo 1: a,b,c,d – *Didymella*; e,f – *Phoma*

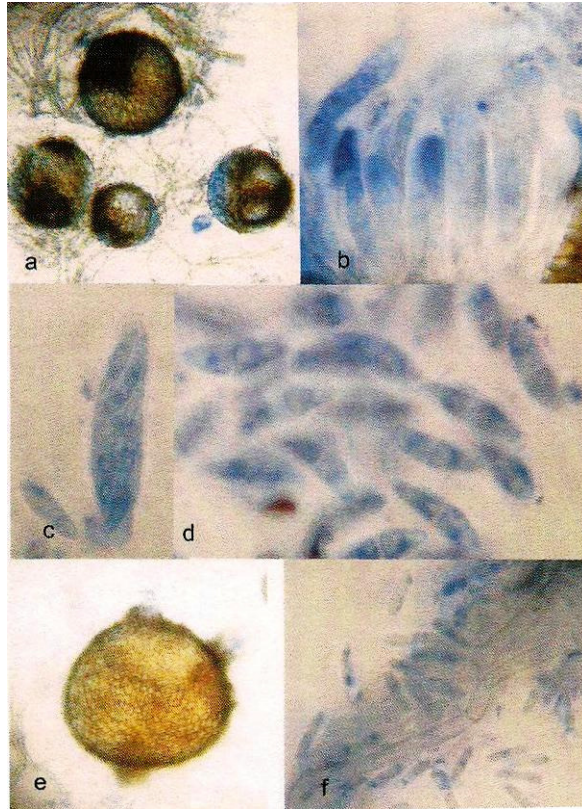


Figura 2 - Colônia com 7 dias em MA2% e AO. Morfotipo 2: a-d; Morfotipo 1: e-f

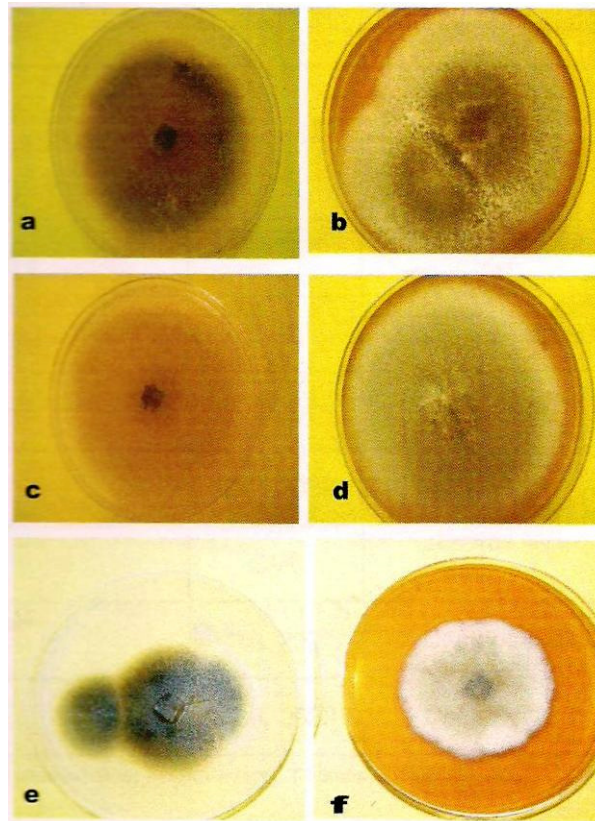


Tabela 1 - Relação dos isolados de *Phoma* recuperados de folhas de soja

Espécie	Código	Origem	M
<i>Phoma</i> sp (T)	CML	Tangará da Serra – MT	1
<i>Phoma</i> sp (T)	CML	Lavras – MG	1
<i>Phoma</i> sp (T)	CML	Lavras – MG	1
<i>Phoma</i> sp (T) *	CML2029	Primavera do Leste – MT	1
<i>Phoma</i> sp (T)	CML	Campo Verde – MT	1
<i>Phoma</i> sp (T)	CML	Ijaci – MG	1
<i>Phoma</i> sp *	CML 2030	Lavras – MG	2
<i>Phoma</i> sp	CML	Lavras – MG	2
<i>Phoma</i> sp *	CML 2031	Camapuã – MT	2
<i>Phoma</i> sp *	CML 2032	Camapuã - MT	3

Legenda: T: apresenta fase teleomórfica; M: morfotipo; * isolados selecionados.

3.3 Teste de patogenicidade

Para o teste de patogenicidade, foram plantadas mudas de soja *cultivar Conquista* em vasos de 5L com a mistura de terra, areia e substrato (1:1:2), colocando-se quatro sementes por vaso. Essas mudas foram crescidas em casa de vegetação até atingir o estágio com três trifólios (3V). Após atingirem este estágio, foram pulverizadas com suspensão de 10^6 conídios mL^{-1} . O inóculo foi obtido em MA 2% após 12 dias de cultivo a 22°C. As mudas inoculadas foram cobertas com sacos plásticos transparentes e colocadas em câmara de crescimento vegetal a 20°C e fotoperíodo de 12 horas. Os sintomas foram avaliados no 3°, 6°, 9° e 12° dias após inoculação e o reisolamento dos fungos foi realizado no 12° dia após a inoculação.

3.4 Preparo do inóculo

A suspensão de conídios foi obtida de colônias puras crescidas 14 dias em meio MA2% e OA, diluídas em 10 mL de água destilada e coadas com gase em um béquer. A concentração da suspensão de conídios foi de 10^6 conídios/mL sendo determinada através da câmara de Neubauer. A concentração final foi obtida através da média de cinco leituras, pela fórmula:

$$C = \frac{x_1+x_2+x_3+x_4+x_5}{5} + \frac{y_1+y_2+y_3+y_4+y_5}{5} \times 250.000$$

Para fazer a diluição, caso necessário, foi utilizada a fórmula: $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$.

3.5 Delineamento

Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso com cinco repetições e dois tratamentos, sendo eles: com molhamento e sem molhamento. Para cada tratamento, cinco repetições com quatro plantas cada uma, com um total de 50 vasos e 200 plantas, incluindo a testemunha.

3.6 Método de inoculação

A suspensão do inóculo foi pulverizada com atomizador manual nas folhas das mudas de soja, utilizando-se um atomizador para cada isolado. Para o tratamento sem molhamento, as mudas foram submetidas à câmara úmida por 36 horas e para o tratamento com molhamento, elas permaneceram na câmara úmida durante todo o período de avaliação. Após a inoculação, as mudas foram acondicionadas em câmara de crescimento vegetal na temperatura de 20°C, com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Para o teste de porcentagem de germinação dos conídios dos isolados estudados, utilizou-se uma lâmina escavada, na qual foi colocada a suspensão de conídios, uma para cada isolado, acondicionadas em placas de petri com papel de filtro umedecido sob a temperatura de 20°C com fotoperíodo de 12 horas.

3.7 Avaliação

Para o teste de germinação, a partir de 24 horas, foi observada a porcentagem de 100 conídios germinados, com a utilização de um microscópio estereoscópico.

Para a patogenicidade, leituras de incidência foram realizadas a partir do 3º, 6º, 9º e 12º dias após a inoculação das mudas para os dois tratamentos.

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 Teste de germinação

Após o período de 24 horas, verificou-se, através do microscópio esterioscópico, que todos os isolados apresentaram conídios com início de germinação, podendo afirmar que a temperatura de 20°C contribuiu para a germinação dos conídios.

4.2 Teste de patogenicidade

Foram isolados *Phoma* e *Dydimella* das amostras coletadas, porém não foram observadas lesões nas condições avaliadas.

A primeira leitura foi realizada no 3º dia após inoculação para o tratamento sem molhamento foliar e não foram observadas lesões ou manchas necróticas típicas de *Phoma*, retirando-se a câmara úmida. No tratamento com molhamento (câmara úmida), também não foi observada a formação de manchas nas folhas, retornando à câmara úmida e mantendo-a durante todo o ensaio.

No 6º, 9º e 12º dias após inoculação, na leitura para avaliação da incidência da doença para confirmar a patogenicidade dos isolados nos dois tratamentos, as folhas inoculadas não apresentaram necroses ou manchas típicas de *Phoma*.

Kövics *et al* (1999) confirmou a patogenicidade em mudas de soja para *Phoma pinodella* (= *Phoma sojicola*) e *Phoma exígua* var. *exígua* (= *Phyllosticta sojicola*), utilizando isolados de *Phoma* obtidos de sementes e folhas de soja. (*Glycine max.* Cv Mc Call). Foi utilizada uma suspensão de conídios em água destilada com concentração de 10⁶ conídios ml/L. Os vasos foram colocados aleatoriamente em uma casa de vegetação e foram cobertos com sacos plásticos um dia antes e dois dias após a inoculação, a uma temperatura entre 22-26°C durante um período de 14 dias.

O resultado negativo para o teste de patogenicidade, utilizando isolados de soja obtidos de folhas de plantas cultivadas no Brasil, mostrou que elas não produziram sintomas da doença, quando inoculadas com suspensão de conídios (10⁶ ml/L), sob a temperatura de 20°C. Esse resultado suporta a possibilidade de serem espécies com modo de vida saprófitas ou endófitos de acordo com estudos realizados com diferentes espécies de *Phoma* para cultura da soja. (IRINYI *et al*, 2009; KÖVICS *et al*, 1999).

Segundo Aveskamp *et al* (2008), a *Phoma* é disseminada por infecções primárias que podem ocorrer por ferimentos causados por práticas de cultivo, condições climáticas (água de chuva e vento), ou interação entre organismo. Na falta de um hospedeiro viável, muitas espécies persistem como saprófitas em material orgânico no solo e, na maioria dos casos, esse material é resíduo de plantas que foram previamente infectadas. Deste modo, esses fungos sobrevivem a condições de estresse, como seca e frio intenso. As estruturas mais convenientes para que o patógeno sobreviva a essas condições são conidiomatas, os quais são formados por apenas um pequeno número de espécies de *Phoma*.

Em alguns casos, pode se observar a fase sexuada, com a formação de ascósporos pelo pseudotécio (ascomata). Quando observada na natureza, é comumente encontrada na fase saprófita do ciclo de vida do patógeno. (AVESKAMP *et al*, 2008).

Em outras culturas, também é possível encontrar espécies do gênero *Phoma* como oportunistas. Segundo Woudenberg *et al* (2009), *Phoma clematidina* foi isolada e inoculada em outras espécies de planta que não *Clematis*, como feijão, ervilha, abóbora, berinjela e outras, para avaliar a gama de hospedeiros. Não foram observados sintomas da doença, porém foi detectado o crescimento de picnídios, indicando que esta espécie pode sobreviver como saprófita em diferentes hospedeiros.

No cafeeiro, segundo Pfenning *et al* (2005) e Salgado *et al* (2000), as espécies *Phoma herbarum*, *Phoma jolyana* var. *jolyana* e *Phoma leveillei* são consideradas saprófitas e podem ser encontradas em associação simbiótica com o cafeeiro sem causar danos à planta.

De acordo com Weber *et al* (2003), endófitos são organismos que passam um período significativo do seu ciclo de vida sem apresentar sintomas no seu hospedeiro, porém podem ser isolados do mesmo. Ele isolou a espécie *Phoma medicaginis* de folhas e caule de plantas de *Medicago sativa* e *Medicago lupulina* concluindo que esta espécie de fungo é um endófito dominante de brotos dessas plantas.

Marcinkowska (2008) relata que foram feitos registros de espécies de fungos saprófitas na medida em que foram capazes de infectar sementes causando sua destruição e conseqüente redução no stand de plantas em culturas de soja, ervilha e outras. Também pelo fato de alguns fungos saprófitas produzirem metabólitos secundários que podem ser prejudiciais às pessoas e aos animais.

Contudo, segundo Aveskamp *et al* (2010), aproximadamente 50% de táxons de *Phoma* são reconhecidos como relevantes fungos patogênicos, incluindo patógenos quarentenários. A maioria está no ambiente, como organismos saprófitas do solo. Muitas espécies mudam para estilo de vida

patogênico quando encontram um hospedeiro apropriado. O gênero também compreende diversas espécies e variedades reconhecidas como fungos endófitos, fungicolous e lichenicolous.

Alguns fatores foram considerados como sendo possíveis contribuintes para a inibição de sintomas causados pelos isolados, como:

- i. temperatura em que foi realizado o experimento não ser favorável ao desenvolvimento do fungo;
- ii. cultivar utilizada ser resistente ao fungo inoculado;
- iii. momento de inoculação não ser realizado no estágio de desenvolvimento em que a planta apresente sintomas.

5 CONCLUSÃO

Os isolados obtidos a partir de lesões necróticas de folhas de soja coletadas nos estados de Mato Grosso e Minas Gerais, apesar de apresentarem inóculos viáveis, após serem inoculados em mudas de soja no estágio de três trifólios, não induziram sintomas típicos de Mancha de Phoma.

REFERÊNCIAS

AVESKAMP, M. M.; GRUYTER, J. de.; CROUS, P. W. Biology and recente developementes in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance. **Fungal Diversity**, v. 31, p. 1-18, 2008.

AVESKAMP, M. M.; GRUYTER, J. de.; WOUDENGERG, J. H. C.; VERKLEY, G. J. M.; CROUS, P. W. Highlights of the *Didymellaceae*: A polyphasic approach to characterize *Phoma* and related pleosporalean genera. **Studies in Micology**, v. 65, p. 1-60, 2010.

BOEREMA, G. H.; GRUYTER, J.; NOORDELOOS, M. E.; HAMERS, M. E. C. ***Phoma* Identification Manual**. Wallingford: CAB International, 2004.

CÂMARA, G. M. S. **Soja: tecnologia da produção**. Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba, 1998.

CHILVERS, M. I.; ROGERS, J. D.; DUGAN, F. M.; STEWART, J. E.; CHEN, W.; PEEVER, T. L. *Didymella pisi* sp. Nov., the teleomorph of *Ascochyta pisi*. **British Mycological Society**, 2008.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja: Região Central do Brasil 2009 e 2010**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br>>. Acesso em: 12 set. 2010.

GRUYTER, J. de.; AVESKAMP, M. M.; WOUDEBERG, J. H. C.; VERKLEY, G. J. M.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. Molecular phylogeny of *Phoma* and allied anamorph genera: Towards a reclassification of the *Phoma* complex. **British Mycological Society**, 2009.

IRINYI, L.; KÖVICS, G. J.; SÁNDOR, E. Taxonomical re-evaluation of *Phoma*-like soybean pathogenic fungi. **Mycological Research**, v. 113, p. 249-260, 2009.

KÖVICS, G. J.; GRUYTER, J. DE.;VAN DERAA, H. A. *Phoma* sojicola com. nov. and other hyaline-spored coelomycetes pathogenic on soybean. **Mycological Research**, v. 103, n. 8, p. 1065-1070, ago.1999.

MARCINKOWSKA, J. Fungi occurrence on seeds of field pea. **Acta Mycologica**, v. 43, n. 1, p. 77-89, 2008.

O GLOBO. Pesquisa. **Dados da Conab para a safra de soja 2009/10**. Disponível em: <<http://oglobo.globo.com/pais/mat/2010/03/09/conab-eleva-safra-de-soja-para-67-6-mi-alta-de-18-916020628.asp>>. Acesso em: 22 set. 2010.

PFENNING, L. H.; SALGADO, M.; ALMEIDA, A. R.; PEREIRA, R. T. G. Estação perigo. **Cultivar VII**, n. 79, p. 12-16, 2005.

SALGADO, M.; PFENNING, L. H. Identificação e caracterização de espécies de *Phoma* no Brasil. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas, 2000.

WEBER, R. W. S.; STENGER, E.; MEFFERT, A.; HAHN, M. Brefeldin A production by *Phoma medicaginis* in dead pre-colonized plant tissue: a strategy for habitat conquest. **British Mycological Society**, 2004.

WOUDEBERG, J. H. C.; AVESKAMP, M. M.; GRUYTER, J. de.; SPIERS, A. G.; CROUS, P. W. Multiple didymella teleomorphs are linked to the *Phoma* clematidina morphotype. **Persoonia**, v. 22, p. 56-62, 2009.