

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 14/07/2027.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**“CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Phaeocytostroma*  
*sacchari* ASSOCIADOS À CANA-DE-AÇÚCAR EM  
DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL”**

**Victória Letícia Justiniano Piña**

**Bacharel em Ciências Biológicas**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**

**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**“CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Phaeocytostroma sacchari*  
ASSOCIADOS À CANA-DE-AÇÚCAR EM DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL”**

**Discente: Victória Letícia Justiniano Piña**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Luciana Rossini Pinto**

**Coorientadores: Dr. Laudecir Lemos Raiol Júnior**

**Dra. Luciana Oliveira Souza Anjos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| P645c | <p>Piña, Victória Letícia Justiniano</p> <p>Caracterização de isolados de <i>Phaeocystostroma sacchari</i> associados à cana-de-açúcar em diferentes regiões do Brasil / Victória Letícia Justiniano Piña. -- Jaboticabal, 2025</p> <p>97 p. : tabs., fotos</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal</p> <p>Orientadora: Luciana Rossini Pinto</p> <p>Coorientador: Laudecir Lemos Raiol Júnior</p> <p>1. Fungos. 2. Genética. 3. Cana-de-açúcar. 4. Fitopatologia. 5. Biologia molecular. I. Título.</p> |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### **Impacto potencial desta pesquisa**

Este foi um trabalho inicial e exploratório para ter uma compreensão mais aprofundada de *Phaeocytostroma sacchari*, descrevendo suas características morfológicas e moleculares. Dessa forma, seria possível identificar marcadores genéticos específicos para o fungo futuramente, além de avaliar a possibilidade de tentar identificá-lo também visualmente. Através das análises genéticas, seria possível entender como o fungo se espalha, podendo assim controlar sua disseminação e entender porque houve um aumento tão grande na quantidade de infecções por este patógeno recentemente. A pesquisa tem potencial para contribuir com a ODS 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável) ao impactar diretamente a segurança alimentar. O controle eficaz da podridão, que afeta a produção de cana-de-açúcar, uma cultura fundamental para a alimentação e produção de biocombustíveis, pode melhorar a sustentabilidade agrícola. A pesquisa também se alinha à ODS 12 (Produção e Consumo Responsáveis), ao propor o desenvolvimento de protocolos fitossanitários mais eficientes, como a seleção ou desenvolvimento de variedades de cana-de-açúcar resistentes ao patógeno, evitando o uso de fungicidas.

### **Potential impact of this research**

This was an initial and exploratory study to gain a deeper understanding of *Phaeocytostroma sacchari*, describing its morphological and molecular characteristics. In this way, it would be possible to identify specific genetic markers for the fungus in the future, as well as evaluate the possibility of attempting to identify it visually. Through genetic analyses, it would be possible to understand how the fungus spreads, thus controlling its dissemination and understanding why there has been such a large increase in the number of infections by this pathogen recently. The research has the potential to contribute to SDG 2 (Zero Hunger and Sustainable Agriculture) by directly impacting food security. The effective control of rot, which affects sugarcane production, a crop essential for food and biofuel production, could improve agricultural sustainability. The research also aligns with SDG 12 (Responsible Consumption and Production), by proposing the development of more

efficient phytosanitary protocols, such as selecting or developing sugarcane varieties resistant to the pathogen and avoiding the use of fungicides.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Phaeocystotroma sacchari* ASSOCIADOS À CANA-DE-AÇÚCAR EM DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL

**AUTORA: VICTÓRIA LETÍCIA JUSTINIANO PIÑA**

**ORIENTADORA: LUCIANA ROSSINI PINTO**

**COORDENADOR: LAUDÉCIR LEMOS RAIOL JÚNIOR**

**COORDENADORA: LUCIANA OLIVEIRA SOUZA ANJOS**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pela Comissão Examinadora:

Pesquisadora Dra. LUCIANA ROSSINI PINTO (Participação Presencial)  
Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Cana / IAC - Ribeirão Preto/SP

Pesquisador Dr. JOÃO RICARDO VIEIRA MANECHINI (Participação Presencial)  
Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Cana / IAC - Ribeirão Preto/SP

Profa. Dra. JANETE APPARECIDA DESIDERIO (Participação Presencial)  
Departamento de Biologia / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 14 de julho de 2025

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

Victória Letícia Justiniano Piña – Nascida em Ribeirão Preto, SP, no dia 16 de junho de 1999. Filha de Sidnei Aparecido Piña e Elaine Justiniano de Souza Piña. Iniciou o curso de Ciências Biológicas (Bacharel) em 2018, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal - SP, que foi concluído em março de 2023. Foi bolsista de iniciação científica pela FAPESP. Foi Estagiária bolsista da FUNDAG no Centro de Cana de Ribeirão Preto - IAC. Em março de 2023, ingressou no curso de Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), sendo bolsista da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal.

Aos meus pais, Elaine Justiniano de Souza Piña e Sidnei Aparecido Piña, por sempre me incentivarem e darem tudo de si para que eu pudesse realizar meus sonhos. Vocês são minha inspiração.

Dedico

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre me manter firme em minha caminhada, me dar força e me proteger.

Ao meu pai, que sempre me incentivou e investiu nos meus estudos, trabalhando incansavelmente, muitas vezes até tarde da noite, para que eu pudesse estudar nas melhores escolas e me formar com tranquilidade na faculdade. Agradeço também por todas as vezes em que trouxe minha comida favorita quando eu estava chateada com algo.

À minha mãe, que me deu colo, escutou minhas aflições, segurou minha mão e sempre me levantou quando me sentia aflita ou ansiosa. Ela trouxe luz aos meus dias, vibrou com cada conquista e dava até pulinhos de alegria quando eu chegava em casa e contava que os experimentos tinham dado certo.

À Prof<sup>a</sup> Dra. Luciana Rossini, minha orientadora e mentora, que esteve ao meu lado nos últimos 3 anos, sempre com muita paciência, carinho e dedicação. Agradeço por sempre me instigar a evoluir profissionalmente.

Aos meus coorientadores, Dr. Laudecir Lemos Raiol Júnior e Dra. Luciana Oliveira Souza Anjos. Ao Dr. Laudecir, por me ensinar tanto sobre *Phaeocytostroma sacchari*, outros fungos e por enriquecer ainda mais o meu trabalho com isolados da UNESP/FCAV. À Dra. Luciana Anjos, por ceder seu laboratório e isolados para que eu pudesse estudá-los, além de me ensinar tanto sobre microbiologia.

Ao Dr. Ivan Anjos, pela coleta das canas-de-açúcar infectadas por *P. sacchari*, o que tornou possível termos a coleção micológica com amostras de diversos estados e cidades brasileiras.

À Ana Carolina, minha amiga querida, que foi um presente que recebi no mestrado. Ela me acompanhou durante toda a pós-graduação, sendo minha parceira de bancada, em visitas técnicas, aulas, trabalhos e conselhos. Me ajudou e dividiu comigo todos os sentimentos e sensações dessa caminhada tão particular. Sou muito grata por ter compartilhado tudo com você. Graças a isso, o fardo foi muito mais leve.

À equipe do laboratório do IAC: Thaís, Kátia, Marcel, Tanuza, João e Maicon, que sempre me ajudaram a interpretar meus dados, aprimorar minhas técnicas e

também compartilharam momentos de lazer, como pipocas e cafés da tarde. Já sinto saudades do dia a dia com vocês.

À minha amiga Sâmia Lima, que acompanhou todas as minhas fases desde a adolescência e durante meu mestrado também vibrou por mim, se interessou pela minha pesquisa, rotina, ouviu desabafos e comemorou comigo cada etapa que era concluída com sucesso.

Ao Centro Avançado de Pesquisa e Desenvolvimento de Cana do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), por proporcionar toda a infraestrutura necessária para a realização dos meus experimentos.

Ao Centro de Pesquisa em Engenharia - Fitossanidade em Cana-de-Açúcar (CEPENFITO - São Martinho; Processo FAPESP 17/25258-1) por reconhecerem o potencial da minha pesquisa e por torná-la possível ao investirem financeiramente no projeto.

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

## SUMÁRIO

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMO                                                                 | x  |
| ABSTRACT                                                               | xi |
| 1. INTRODUÇÃO                                                          | 12 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA                                               | 13 |
| 2.1 Cana-de-açúcar: importância no Brasil e no mundo.                  | 13 |
| 2.2. Podridão da casca                                                 | 15 |
| 2.3 Gênero <i>Phaeocytostroma</i>                                      | 18 |
| 2.5 Caracterização molecular                                           | 19 |
| 2.6 Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)                      | 21 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS                                                  | 22 |
| 3.1 Coleta de material e isolamento de <i>Phaeocytostroma sacchari</i> | 22 |
| 3.2 Cultivo de isolados monospóricos                                   | 24 |
| 3.3 Caracterização morfocultural                                       | 25 |
| 3.4 Análise estatística                                                | 30 |
| 3.5 Extração de DNA                                                    | 30 |
| 3.6 Amplificação e sequenciamento da região ITS                        | 31 |
| 3.7 Análise das sequências e filogenia                                 | 32 |
| 3.8 Marcadores AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)           | 33 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO                                              | 35 |
| 4.1 Características morfoculturais de <i>Phaeocytostroma sacchari</i>  | 35 |
| 4.2 Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM)                | 38 |
| 4.3 Mensuração de conídios                                             | 39 |
| 4.4 Análise de Componentes Principais (ACP)                            | 40 |
| 4.5 Análise de Variância (ANOVA)                                       | 42 |
| 4.6 Sequenciamento e filogenia                                         | 44 |
| 4.7 Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)                      | 49 |
| 5. CONCLUSÕES                                                          | 53 |



**“CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Phaeocytostroma sacchari*  
ASSOCIADOS À CANA-DE-AÇÚCAR EM DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL”**

**RESUMO** - *Phaeocytostroma sacchari* é o agente causal da podridão da casca da cana-de-açúcar e também tem sido associado à síndrome do murchamento desta cultura, ainda sem causa definida, resultando em redução do açúcar total recuperável (ATR) e perdas de produtividade. Este estudo teve como objetivo caracterizar morfofocultural e molecularmente 31 isolados de *P. sacchari* oriundos dos principais estados produtores do setor sucroenergético no Brasil: São Paulo (SP), Goiás (GO) e Minas Gerais (MG), buscando compreender suas relações filogenéticas, populacionais e possíveis variações regionais. Foram avaliados o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), coloração das colônias, altura e abundância do micélio, comprimento e largura dos conídios. As análises incluíram ANOVA, componentes principais (ACP), sequenciamento da região ITS (primers ITS5 e ITS4) para identificação da espécie dos isolados, análise filogenética por inferência bayesiana e a técnica de Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) para avaliar diversidade e estrutura genética, com posterior análise pelos softwares STRUCTURE 2.3.4 e DARwin 6.0.21. Para isso, foram escolhidas as 8 combinações mais polimórficas para serem aplicadas nos isolados. A maioria dos isolados apresentou colônias com micélio aéreo, abundante, branco no anverso e creme e marrom-esverdeado no reverso da placa, conídios piriformes, elipsoidais e arredondados, com média de comprimento de 1,93 µm e largura de 0,72 µm. Observou-se elevada plasticidade fenotípica e homogeneidade genética entre os isolados, sem correlação com a origem geográfica, sugerindo fluxo gênico entre as populações. O IVCM no terceiro dia e as medidas dos conídios foram as variáveis mais discriminantes. As sequências ITS confirmaram a identidade dos isolados como *P. sacchari*, embora com formação de clado distinto de outras sequências da espécie, sugerindo variação intragenômica. A análise de AFLP detectou polimorfismos genômicos e identificou K = 3 grupos genéticos com alto compartilhamento de alelos. O grande número de amostras em São Paulo pode ter contribuído para um viés amostral, refletindo a sub-representação de outras regiões.

**Palavras-chave:** *Saccharum* spp, *Pleocyta*, fitossanidade, coleção micológica.

**“CHARACTERIZATION OF ISOLATES OF *Phaeocytostroma sacchari*  
ASSOCIATED WITH SUGAR CANE IN DIFFERENT REGIONS OF BRAZIL”**

**ABSTRACT** - *Phaeocytostroma sacchari* is the causal agent of sugarcane stalk rot and has also been associated with the wilt syndrome of this crop, whose cause remains undefined, leading to a reduction in recoverable sugar (ATR) and productivity losses. This study aimed to morphoculturally and molecularly characterize 31 isolates of *P. sacchari* from the main sugar-energy producing states in Brazil: São Paulo (SP), Goiás (GO), and Minas Gerais (MG), in order to understand their phylogenetic and population relationships and investigate possible regional variations. The following traits were evaluated: mycelial growth rate index (IVCM), colony coloration, mycelium height and abundance, conidial length and width. Analyses included ANOVA, principal component analysis (PCA), ITS region sequencing (primers ITS5 and ITS4) for species identification of the isolates, phylogenetic analysis using Bayesian inference, and the Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) technique to assess genetic diversity and structure. The eight most polymorphic primer combinations were selected and applied to the isolates, with subsequent analysis performed using STRUCTURE 2.3.4 and DARwin 6.0.21 software. Most isolates showed colonies with aerial, abundant, white mycelium on the front and cream to greenish-brown on the reverse of the plate, with pyriform, ellipsoidal, and rounded conidia, averaging 1.93  $\mu\text{m}$  in length and 0.72  $\mu\text{m}$  in width. High phenotypic plasticity and genetic homogeneity were observed among the isolates, with no correlation to geographic origin, suggesting gene flow between populations. IVCM on the third day and conidial measurements were the most discriminating variables. ITS sequences confirmed the identity of the isolates as *P. sacchari*, although they formed a distinct clade from other sequences of the species, suggesting intragenomic variation. AFLP analysis revealed genomic polymorphisms and identified  $K = 3$  genetic groups with high allele sharing. The large number of samples from São Paulo may have contributed to a sampling bias, reflecting underrepresentation of other regions.

**Keywords:** *Saccharum* spp, *Pleocyta*, phytosanitary, mycological collection

## 1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) representa uma das principais culturas do agronegócio brasileiro, com produção estimada em 689,8 milhões de toneladas na safra 2024/25, ocupando uma área de 8,63 milhões de hectares (CONAB, 2024). No entanto, vários problemas fitossanitários têm reduzido a produtividade dos canaviais, como a ocorrência de pragas e doenças, especialmente fungos (Melo et al., 2024).

O fungo *Phaeocytostroma sacchari* (Ellis e Everh.) B.Sutton (sin. *Pleocyta sacchari* (Masse) Petr. & Syd.; *Melanconium sacchari* Masse), pertencente ao filo Ascomycota, tem como único hospedeiro conhecido a cana-de-açúcar (CABI, 2022; Comstock e Bailey, 2000) e é conhecido como agente causal da podridão do colmo (Gopi et al., 2022), também chamada de podridão da casca ou podridão azeda (Comstock e Bailey, 2000). Esta doença normalmente se manifesta no final do período de cultivo da cana-de-açúcar, reduzindo sua qualidade e as tornando impróprias para plantio. Os sintomas são descoloração da casca para tom palha ou marrom, região nodal no interior do colmo com coloração marrom-alaranjada e nos entrenós é característico o odor azedo e a presença de massas de esporos semelhantes a pequenos fios enrolados (Gopi et al., 2022), chamados de cirros.

A podridão do colmo já foi registrada na África do Sul (Goodall et al., 1999), México (Carabez et al., 2014), Índia (Viswanathan et al., 2003) e Brasil (Liu et al., 1977), sendo que na África do Sul e no México ela levou à morte das plantas (Carabez et al., 2014). Na África do Sul, a doença causou grandes prejuízos ao setor sucroenergético, resultando na rejeição de carregamentos de cana pelas usinas e, em pouco mais de um ano, afetou 30% da produção, com perdas de 5 a 10% na fabricação de açúcar (McFarlane e Bailey, 2001).

Atualmente, *P. sacchari* tem sido associada à Síndrome da Murcha da Cana-de-açúcar (SMC), uma doença que atinge exclusivamente os colmos, reduzindo a produtividade dos canaviais. Os sintomas da SMC surgem no período de estiagem, momento em que há a maturação da cana, forçando a antecipação da colheita para mitigar perdas. Três principais patógenos foram isolados de plantas sintomáticas: *Fusarium* spp., *Colletotrichum falcatum* e *P. sacchari*. Embora, *C. falcatum* seja apontado como o agente causal, seus acérvulos são encontrados

apenas nos tecidos mais debilitados e colmos secos. Em contraste, *P. sacchari* tem sido encontrada em todas as variedades e está presente na maioria das regiões produtoras (Anjos et al., 2023). Essas evidências indicam que *P. sacchari* pode ter um papel relevante na ocorrência da doença.

Antes considerado um patógeno de importância secundária, *P. sacchari* agora tem sido constantemente encontrada nos canaviais e associada à SMC, doença que tem gerado preocupação ao setor sucroenergético e que tem reduzido a produção agrícola e industrial. A disponibilidade de informações na literatura relacionada a *P. sacchari* é limitada, incluindo o conhecimento sobre suas características moleculares e morfológicas. Compreender melhor a estrutura genética das populações encontradas em diferentes regiões produtoras do país pode ajudar a explicar o aumento da ocorrência do patógeno no campo. Além disso, essas informações podem contribuir para entender o papel de *P. sacchari* na SMC e, com isso, auxiliar no desenvolvimento de estratégias de manejo da doença.

O objetivo deste estudo foi caracterizar isolados de *P. sacchari* com base em características morfológicas e moleculares para melhor compreender suas relações filogenéticas e populacionais, além de verificar possíveis diferenças entre isolados provenientes dos estados brasileiros mais importantes para o setor sucroenergético: São Paulo (SP), Goiás (GO) e Minas Gerais (MG).

## **5. CONCLUSÕES**

A espécie possui alta plasticidade, evidenciada pela grande variabilidade fenotípica observada mesmo sob condições ambientais controladas. Nenhuma das análises realizadas, seja fenotípica ou genética, apresentou correlação significativa com a localização geográfica dos isolados. Isso sugere que o principal fator que

influencia as frequências alélicas é o intenso fluxo gênico entre as populações, conforme demonstrado na análise da estrutura genética, contribuindo para homogeneização genética e a mistura entre os grupos, atenuando possíveis efeitos de isolamento geográfico.

O IVCM, especialmente no terceiro dia, e as medidas dos conídios se destacaram como as variáveis com maior potencial para diferenciação entre isolados, enquanto as demais não foram significativas.

O sequenciamento da região ITS mostrou-se eficiente para identificar com segurança a espécie dos isolados, que apresentaram sequências praticamente idênticas, confirmando-os como *Phaeocytostroma sacchari*.

A técnica de AFLP foi capaz de identificar polimorfismos na região genômica dos isolados, demonstrando variabilidade molecular, apesar da homogeneidade da espécie.

Os dados podem estar sendo influenciados pela amostragem reduzida nos estados de Goiás e Minas Gerais, enquanto São Paulo recebe foco desproporcional. Embora São Paulo seja um dos maiores produtores de cana-de-açúcar, o excesso de coletas nessa região pode gerar redundância nas análises a respeito de *P. sacchari*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar FM, Lanza FE, Costa RV, Silva DD, Lana UGP, Guimarães EA, Gomes G R, Cota LV (2016). First report of *Phaeocytostroma ambiguum* causing maize stalk rot in Brazil. **Plant Disease**, 100, 2528.

Alsohaili S A, Bani-Hasan BM (2018) Morphological and molecular identification of fungi isolated from different environmental sources in the Northern Eastern desert of Jordan. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v .11, n. 3.

Alves LQ, Franco PN, Zanetti WAL, Góes BC (2021) Desempenho da produção da cultura de cana-de-açúcar nos principais estados produtores. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 15, n. 2, p. 303-317.

Anjos I, Anjos L, Raiol Júnior L, Machado da Silva L, Góes A (2023) Síndrome do murchamento da cana-de-açúcar, podridão da casca ou podridão azeda: doença antiga, desafio novo. **Revista STAB**, v. 41, n. 2, p. 16-19.

Badotti F, de Oliveira FS, Garcia CF, Vaz ABM, Fonseca PLC, Nahum LA, Oliveira G, Góes-Neto A (2017) Effectiveness of ITS and sub-regions as DNA barcode markers for the identification of Basidiomycota (Fungi). **BMC Microbiology**, v. 17, p. 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-0958-x>

Bellemain E, Carlsen T, Brochmann C, Coissac E, Taberlet P, Kauserud H (2010) ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. **BMC microbiology**, v. 10, p. 1-9.

Bengtsson-Palme J, Ryberg M et al. (2013) Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 4, n. 10, p. 914-919. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12073>

Bensch S, Åkesson M (2005) Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? **Molecular Ecology**, v. 14, n. 10, p. 2899-2914.

Bobev SG, Van Poucke K, Maes M (2016) First report of *Phaeocystostroma ambiguum* causing root and stem base rot on maize in Bulgaria. **Plant Disease**, v. 100, n. 6, p. 1237.

Bonin A, Bellemain E, Bronken EP, Pompanon F, Brochmann C, Taberlet P (2004) How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 3261–3273.

Bonin A, Ehrich D, Manel S (2007) Statistical analysis of amplified fragment length polymorphism data: a toolbox for molecular ecologists and evolutionists. **Molecular Ecology**, v. 16, n. 18, p. 3737-3758.

Boonmee S, Wanasinghe DN et al. (2021) Fungal diversity notes 1387–1511: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungal taxa. **Fungal Diversity**, v. 111, p. 1–335. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00489-3>

Bro R, Smilde AK (2014) Principal component analysis. **Analytical Methods**, Royal Society of Chemistry, v. 6, n. 9, p. 2812–2831. <https://doi.org/10.1039/c3ay41907j>

Buso GS (2005) Marcadores moleculares e análise filogenética. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Documento 137, Brasília. Disponível em: Portal Embrapa. Acesso em: 12 dez. 2024.

CABI (2022) *Phaeocystostroma sacchari* (rind disease). CABI Compendium, **CABI International**. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.40085>

Carabez J, Ascencio S, Pedraza J (2014) First report of stalk rot disease of sugarcane caused by *Phaeocystostroma sacchari* in Mexico. **Plant Disease**, v. 98, n. 3, p. 420. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-13-0563-PDN>

Carvalho MRV, Rocha KCA, de Melo MP, Britto FB, Barguil BM, de Alcântara Neto F, Borges AF, da Silva JP, Beserra JEA (2023) Identification and genetic diversity of *Fusarium sacchari* associated with pokkah boeng disease of sugarcane in Northeast

Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 171, p. 36–47. <https://doi.org/10.1111/jph.13152>

Cherubin MR, Carvalho JLN, Cerri CEP, Nogueira LAH, Souza GM, Cantarella H (2021) Land use and management effects on sustainable sugarcane-derived bioenergy. **Land**, v. 10, n. 1, p. 72. <https://doi.org/10.3390/land10010072>

Comstock J, Bailey R (2000) Rind disease and sour rot. In: Rott R, Bailey RA, Comstock JC, Croft BJ, Saumtally AS (Eds.), **A guide to sugarcane diseases**. CIRAD, Montpellier, pp. 163–166.

Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) (2024) **Produção de cana-de-açúcar é estimada em 689,8 milhões de toneladas na safra 2024/2025**. Brasília. Acesso em: 24 jan. 2025.

Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) (2025) **Boletim da safra de cana-de-açúcar - 3º levantamento 2024/2025**. Brasília. Acesso em: 13 maio 2025.

Costa RV, Ferreira A, Casela CR, Silva DD (2008) Podridões fúngicas de colmo na cultura do milho. **Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo**, Circular Técnica v. 100, p. 7

Dhansu P, Kulshreshtha N, Kumar R, Raja AK, Pandey SK, Goel V, Ram B (2021) Identification of drought-tolerant co-canes based on physiological traits, yield attributes and drought tolerance indices. **Sugar Tech**, v. 23, p. 747–761. <https://doi.org/10.1007/s12355-021-00967-7>

Doehlemann G, Ökmen B, Zhu W, Sharon A (2017) Plant pathogenic fungi. In **The fungal kingdom**, pp. 701–726. <https://doi.org/10.1128/9781555819583.ch34>

Earl DA, Von Holdt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, p. 359–361.

Erixon P, Svennblad B, Britton T, Oxelman B (2003) Reliability of Bayesian posterior probabilities and bootstrap frequencies in phylogenetics. **Systematic Biology**, v. 52, n. 5, p. 665–673. <https://doi.org/10.1080/10635150390235485>

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 2611–2620.

Farias-Ramírez AJ, Duarte SN, Moreno-Pizani MA, de Oliveira Costa J, Barros TH, Coelho RD (2024) Combined effect of silicon and nitrogen doses applied to planting furrows on sugar, biomass and energy water productivity of sugarcane (*Saccharum* spp.). **Agricultural Water Management**, v. 296, 108796.

Farr DF, Rossman AY (2016) Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory. **Washington: USDA**. Acesso em: 16 maio 2016.

Freeman S, Katan T, Shabi E (1998) Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, v. 82, n. 6, p. 596–605. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.6.596>

**GBIF Secretariat**. (2023). *Phaeocystostroma* Petr., 1921. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset. Acesso via GBIF.org em 17 maio 2025. <https://doi.org/10.15468/39omei>

Goodall JL, McFarlane SA, Rutherford MA, Kelly HM (1999) An unusual stalk rot of sugarcane caused by *Phaeocystostroma sacchari* in the KwaZulu-Natal Midlands. **Proceedings of the Annual Congress - South African Sugar Technologists' Association**, v. 73, p. 114–117 <https://doi.org/10.1007/BF02943766>

Gopi R, Viswanathan R, Chandran K, Jayaraman S, Mahendran B, Nisha M (2022) Molecular identification of sugarcane stalk rot pathogen (*Phaeocystostroma sacchari*). **Journal of Sugarcane Research**, v. 12, n. 2, p. 140–145. <https://doi.org/10.37580/jsr.2022.2.12.140-145>

Hawksworth DL (2001) The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycological Research**, v. 105, n. 12, p. 1422–1432. <https://doi.org/10.1017/S0953756201004725>

Huelsenbeck JP, Ronquist F, Nielsen R, Bollback JP (2001) Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. **science**, v. 294, n. 5550, p. 2310–2314.

Jaiswal VP, Shukla SK et al. (2021). Potassium influencing physiological parameters, photosynthesis and sugarcane yield in subtropical India. **Sugar Tech**, v. 23, p. 343–359. <https://doi.org/10.1007/s12355-020-00905-z>

Jia X, Zheng X, Damm U, Lu X, Niu X, Feng Y, Zhang W (2023) *Stenocarpella chrysopogonis*, a new species causing leaf streak disease of *Chrysopogon zizanioides* in southern China. **Plant Disease**, v. 107, n. 12, p. 3674–3686.

Kuramae-Izioka EE (1997) A rapid, easy and high yield protocol for total genomic DNA isolation of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum*. **Revista UNIMAR**, v. 19, n. 3, p. 683–689.

Lamprecht SC, Crous PW, Groenewald JZ, Tewoldemedhin YT, Marasas WFO (2011) Diaporthaceae associated with root and crown rot of maize. **IMA Fungus**, v. 2, p. 13–24. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2011.02.01.03>

Laraba I, Busman M, Geiser DM, O'Donnell K (2022) Phylogenetic diversity and mycotoxin potential of emergent phytopathogens within the *Fusarium tricinctum* species complex. **Phytopathology**, v. 112, n. 6, p. 1284–1298.

Larget, B, Simon DL (1999) Markov chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, p. 750–759.

Lazarotto M, Oliveira LDS, Harakava R, Zanatta P, Farias CRJD (2016) Identificação de fungos emboloradores em madeira de *Pinus* spp. em laboratório. **Floresta e Ambiente**, v. 23, n. 4, p. 602-605.

Leslie JF, Summerell BA (2006) *Fusarium* laboratory workshops—A recent history. **Mycotoxin Research**, v. 22, n. 2, p. 73-74.

Liu H, Wang S, Wismer C (1977) Study on rind disease of sugarcane in Pernambuco, Brazil. **Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists**, v. 16, p. 365–381.

Manzatto CV, Assad ED, Bacca JFM, Zaroni MJ, Pereira SEM (2009) Zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar: expandir a produção, preservar a vida, garantir o futuro. **Embrapa Solos - Documentos INFOTECA-E**, v. 110, p. 55.

McFarlane S, Bailey R (2001) A stalk rot caused by *Phaeocystostroma sacchari* in the KwaZulu-Natal midlands region of South Africa. In: **International Society of Sugar Cane Technologists. Proceedings of the XXIV Congress**, v. 2, Brisbane, Australia: Australian Society of Sugar Cane Technologists, p. 456–458.

Mehdi F, Galani S, Wickramasinghe KP, Zhao P, Lu X, Lin X, Xu C, Liu H, Li X, Liu X (2024) Current perspectives on the regulatory mechanisms of sucrose accumulation in sugarcane. **Heliyon**.

Melo J, Santos AP, Andrade MM, Carvalho LR (2023) Emergence of *Phaeocystostroma sacchari* in sugarcane plantations in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 105, p. 1163. <https://doi.org/10.1007/s42161-023-01366-5>

Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 70, p. 3321-3323.

Nilsson RH, Kristiansson E, Ryberg M, Hallenberg N, Larsson KH (2008) Intraspecific ITS variability in the Kingdom Fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification. **Evolutionary Bioinformatics**, v. 4. <https://doi.org/10.4137/EBO.S653>

O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC (1998) Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 95, n. 5, p. 2044-2049. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044>

Oliveira JA (1991). **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. Dissertação, Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

Pereira FD (2016) **Caracterização morfocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum* spp. provenientes de diferentes frutas tropicais**. Tese, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal.

Perrier X, Jacquemoud-Collet JP (2006) DARwin software: dissimilarity analysis and representation for Windows. Disponível em: <http://darwin.cirad.fr>

Petrak F (1921) Mykologische Notizen. II. **Annales Mycologici**, v. 19, p. 17–128.

Prevost A, Wilkinson MJ (1999) A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 98, p. 107–112. 67

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945–959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>

**R Core Team.** (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <https://www.r-project.org/>

Rampersad SN (2021) Spatial pattern of genetic diversity in field populations of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. **Ecology and Evolution**, v. 11, p. 9010 9020.

Ratnadass A, Fernandes P, Avelino J, Habib R (2012) Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, p. 273–303. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0022-4>

Roldan-Ruiz I, Dendauw JE, Van Bockstaele E, Depicker A, Loose M (2000) AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). **Molecular Breeding**, v. 6, p. 125–126.

Schoch CL, Seifert KA et al. (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 16, p. 6241–6246 <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>

**Senanayake IC, Rathnayaka AR et al.** (2020) Morphological approaches in studying fungi: Collection, examination, isolation, sporulation and preservation. **Mycosphere**, v. 11, n. 1, p. 2678–2754.

Silva AS, Oliveira EJ, Haddad F, Jesus ON, Oliveira SAS, Costa MAPC (2013) Molecular fingerprinting of *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* isolates using AFLP markers. **Scientia Agricola**, v. 70, p. 88–94.

Silveira AL, De Oliveira Soares MG, Lopes LS, Stracieri J, Alves E (2019) Genetic diversity of isolates of *Colletotrichum* spp. in banana. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 3, p. 599–606. <https://doi.org/10.1590/1983-21252019v32n304rc>

Sindipeças/Abipeças. (2019). **Relatório da frota circulante 2018**. Sindicato Nacional Indústria Componentes Veículos Automotores SINDIPEÇAS Associação Brasileira Indústria Autopeças ABIPEÇAS. Disponível em:

[https://www.sindipecas.org.br/sindinews/Economia/2019/RelatorioFrotaCirculante\\_Maio\\_2019.pdf](https://www.sindipecas.org.br/sindinews/Economia/2019/RelatorioFrotaCirculante_Maio_2019.pdf). Acesso em: 13 maio 2025.

Smith D, Onions AH (1983) *The preservation and maintenance of living fungi*. **CAB International**, p. vii+51.

Sutton BC (1964) Coelomycetes. III. *Annellolacinia* gen. nov., *Aristastoma*, *Phaeocytostroma*, *Seimatosporium* etc. **Mycological Papers**, v. 97, p. 1–42.

Sutton BC (1992) The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bayley, J. A., e Jeger, M. J. (Eds.), *Colletotrichum, biology, pathology and control*. **C.A.B. International**, Wallingford, p. 1–26.

Tamura K, Stecher G, Kumar S (2021) MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, p. 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

Tatikonda L, Wani SP, Kannan S, Beerelli N, Sreedevi TK, Hoisington D, Devi P, Varshney RK (2009) AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm collection of *Jatropha curcas* L., a biofuel plant. **Plant Science**, v. 176, n. 4, p. 505-513.

Trifinopoulos J, Nguyen LT, Von Haeseler A, Minh BQ (2016) W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. W1, p. W232–W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>

Varshney RK, Chabane K, Hendre PS, Aggarwal RK, Graner A (2007) Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. **Plant Science**, v. 173, p. 638-649.

Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. **Journal of bacteriology**, v. 172, n. 8, p. 4238-4246.

Viswanathan R, Premachandran MN, Balamuralikrishnan M, Jothi R (2003) A new stalk rot disease of sugarcane caused by *Phaeocytostroma sacchari* in India. **Sugar Tech**, v. 5, p. 61-64. <https://doi.org/10.1007/BF02943766>

Vos P, Hogers R et al. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 21, p. 4407-4414.

Vu D, Groenewald M et al. (2019) Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. **Studies in Mycology**, v. 92, n. 1, p. 135-154 <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.05.001>

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A., Gelfand, D. H.,

Shinsky, J. J., e White, T. J. (Eds.), **PCR protocols: a guide to methods and applications**. Academic Press, p. 315-322.

Yang RH, Su JH, Shang JJ, Wu YY, Li Y, Bao DP, Yao YJ (2018) Evaluation of the ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS), specifically ITS1 and ITS2, for the analysis of fungal diversity by deep sequencing. **PLoS ONE**, v. 13, n. 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206428>

Yuan Y, Horikoshi M, Li W (2016) ggfortify: unified interface to visualize statistical results of popular R packages. **The R Journal**, v. 8, n. 2. <https://digitalcommons.unl.edu/r-journal/474/>

Zhang K, Yuan-Ying S, Cai L (2013) An optimized protocol of single spore isolation for fungi. **Cryptogamie, Mycologie**, v. 34, n. 4, p. 349-356. <https://doi.org/10.7872/crym.v34.iss4.2013.349>

Zhao Y, Tsang C, Xiao M, Cheng J, Xu Y, Lau S, Woo P (2015) Intra-genomic internal transcribed spacer region sequence heterogeneity and molecular diagnosis in clinical microbiology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 10, p. 25067-25079. <https://doi.org/10.3390/ijms161025067>

Wang M, Li AM, Liao F, Qin CX, Chen ZL, Zhou L, Li Y, Lakshmanan P, Huang D L (2022) Control of sucrose accumulation in sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) involves miRNA-mediated regulation of genes and transcription factors associated with sugar metabolism. **GCB Bioenergy**, v. 14, n. 2, p. 173-191.

Wang J, Navak S, Koch K, Ming R (2013) Carbon partitioning in sugarcane (*Saccharum* species). **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 201.