

Seleção de linhagens de soja da Embrapa para resistência a doenças: histórico de 2008 a 2014



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 376

Seleção de linhagens de soja da Embrapa para resistência a doenças: histórico de 2008 a 2014

*Rafael Moreira Soares
Carlos Alberto Arrabal Arias*
Autores

Embrapa Soja
Londrina, PR
2016

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, acesso Orlando Amaral, Distrito de Warta
Caixa Postal 231
CEP 86001-970
Londrina, PR
Fone: (43) 3371 6000
Fax: (43) 3371 6100
www.embrapa.br/soja
www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Comitê de Publicações da Embrapa Soja

Presidente: *Ricardo Vilela Abdelnoor*

Secretário-Executivo: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite*

Membros: *Alvadi Antonio Balbinot Junior, Claudine Dinali Santos Seixas, Fernando Augusto Henning, José Marcos Gontijo Mandarin, Liliane Márcia Mertz-Henning, Maria Cristina Neves de Oliveira, Norman Neumaier e Vera de Toledo Benassi.*

Supervisão editorial: *Vanessa Fuzinatto Dall’Agnol*

Normalização bibliográfica: *Ademir Benedito Alves de Lima*

Editoração eletrônica e capa: *Vanessa Fuzinatto Dall’Agnol*

Foto da capa: *Rafael Moreira Soares*

1ª edição

PDF digitalizado (2016)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Soja

Seleção de linhagens de soja da Embrapa para resistência a doenças: histórico de 2008 a 2014 [recurso eletrônico] : / Rafael Moreira Soares... [et al.] – Londrina: Embrapa Soja, 2016.

41 p. : il. ; 21cm. – (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n.376)

1. Soja-Doença de planta. 2. Resistência genética. I. Soares, Rafael Moreira. II. Arias, Carlos Alberto Arrabal. III. Título. IV. Série.

CDD 633.3496 (21.ed.)

© Embrapa 2016

Autores

Rafael Moreira Soares, Dr.

Engenheiro Agrônomo

Pesquisador da Embrapa Soja

Londrina, PR

Carlos Alberto Arrabal Arias, Dr.

Engenheiro Agrônomo

Pesquisador da Embrapa Soja

Londrina, PR

Apresentação

A cultura da soja é um dos principais componentes da produção agrícola e da economia do Brasil, que é o segundo maior produtor mundial dessa oleaginosa. Entre os diversos fatores que interagiram para que a cultura alcançasse esse posto no país, a disponibilidade de cultivares com excelente potencial de produtividade tem sido um fator essencial.

O desenvolvimento de boas cultivares de soja passa por uma série de etapas dentro de um programa de melhoramento, e uma destas etapas é a seleção de linhagens para a resistência à doenças. Essa seleção proporciona que sejam lançadas cultivares com níveis de resistência a diversas doenças importantes da cultura, melhorando o potencial produtivo da cultivar e diminuindo o custo de produção, já que a resistência genética é um dos métodos mais eficientes e baratos que se pode disponibilizar ao agricultor para o controle de doenças.

A presente publicação tem como objetivo descrever algumas das doenças testadas para a seleção de linhagens resistentes no programa de melhoramento de soja da Embrapa. Buscou-se disponibilizar informações gerais sobre as doenças, sobre como os testes são realizados, do volume de trabalho realizado entre os anos de 2008 a 2014 e de como essas doenças tem influenciado o melhoramento de cultivares.

Com isso, espera-se que esse documento seja, além de um registro de importantes atividades relacionadas ao desenvolvimento de cultivares, uma fonte de consulta a quem busca informações sobre o papel das doenças dentro de um programa de melhoramento e de como realizar os testes de seleção.

Ricardo Vilela Abdelnoor

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento
Embrapa Soja

Sumário

Introdução	9
Resistência genética às doenças	11
Cancro da haste [<i>Diaporthe aspalathi</i> (sin. <i>D. phaseolorum</i> var. <i>meridionalis</i>)]	12
Mancha olho-de-rã (<i>Cercospora sojina</i>).....	17
Podridão radicular de Phytophthora (<i>Phytophthora sojae</i>).....	20
Pústula bacteriana (<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>)	24
Levantamento de dados	28
Ano de 2008.....	28
Ano de 2009.....	29
Ano de 2010.....	30
Ano de 2011	30
Ano de 2012.....	31
Ano de 2013.....	31
Ano de 2014.....	31
Análise conjunta dos anos	32
Comentários finais	34
Referências	36

Seleção de linhagens de soja da Embrapa para resistência a doenças: histórico de 2008 a 2014

Rafael Moreira Soares

Carlos Alberto Arrabal Arias

Introdução

A resistência genética de plantas é um dos principais métodos de controle que se pode dispor contra doenças em culturas agrícolas comerciais, inclusive a soja.

Segundo estimativa, no Brasil foram semeados 31,9 milhões de hectares de soja na safra 2014/15, com produtividade média de 3.016 kg ha⁻¹ e produção de 96,2 milhões de toneladas (CONAB, 2015), sendo um dos principais componentes da produção agrícola brasileira. O país possui cultivos comerciais em 16 Estados, nos mais variados ambientes agrícolas e, marcantemente para a soja, nas mais diversas latitudes, que determinam o regime de luz e temperatura de cada região. Em razão dessa amplitude, um programa de melhoramento que visa desenvolver cultivares para diversas regiões do Brasil, precisa fazer a seleção dos materiais diretamente nessas regiões, proporcionando condições para selecionar os materiais mais bem adaptados a cada condição. No entanto, para a seleção de resistência de plantas a algumas doenças, os métodos desenvolvidos para testes em casa de vegetação permitem que todos os materiais sejam avaliados no mesmo ambiente e ao mesmo tempo, aumentando a eficiência do processo de seleção e uniformizando os resultados.

A Embrapa e seus parceiros possuem bases de testes para o desenvolvimento de cultivares em diversas regiões do país. Todos os anos, o setor de Micologia e Bacteriologia do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Soja, em Londrina, PR, recebe linhagens de soja nas fases de desenvolvimento chamadas Preliminar 2, Preliminar 3 e Finais, de cada uma dessas regiões, para a avaliação da reação quanto às principais doenças. Existem quatro doenças rotineiramente avaliadas: cancro da haste [*Diaporthe aspalathi* (sin. *D. phaseolorum* var. *meridionalis*)], mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*), podridão radicular de *Phytophthora* (*Phytophthora sojae*) e pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*).

Além das doenças citadas acima, algumas linhagens do programa também são testadas quanto à reação a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), a mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*), ao oídio (*Microspora diffusa*), ao mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), a mancha bacteriana marrom (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) e a podridão vermelha da raiz (*Fusarium* spp.). Essas não foram incluídas no presente levantamento, pois os testes não são realizados com a mesma frequência que para as quatro doenças citadas inicialmente, além de serem realizados, muitas vezes, em seleções específicas de linhagens para cada doença.

Também é testada na Embrapa Soja, pelo setor de Nematologia do Laboratório de Fitopatologia, a reação de linhagens para os nematoides do cisto (*Heterodera glycines*) e de galhas (*Meloidogyne incognita* e *M. javanica*), e pelo setor de Virologia a reação para o mosaico comum da soja (*Soybean Mosaic Virus*) e para a necrose da haste (*Cowpea Mild Mottle Virus*).

Entre os anos de 2008 e 2014, a equipe de Fitopatologia da Embrapa Soja participou da geração e do lançamento de 97 cultivares de soja (Figura 1).

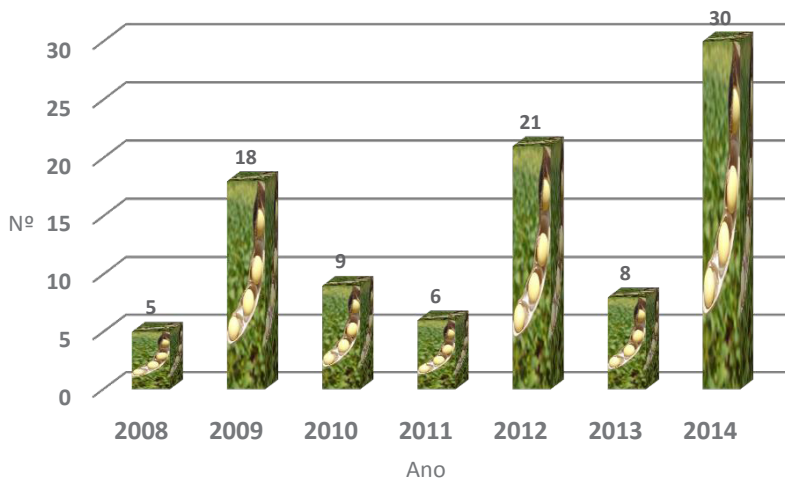


Figura 1. Número de cultivares de soja gerados e lançados pela Embrapa entre os anos de 2008 e 2014.

Neste Documento é apresentado um levantamento dos resultados dos testes de avaliação da resistência de plantas a doenças testadas rotineiramente na Embrapa pelo setor de Micologia e Bacteriologia, ao longo de sete anos (2008 a 2014), com prévia descrição das doenças e das metodologias de avaliação. Com esses dados, é possível analisar características do germoplasma utilizado no programa de melhoramento em relação à reação a doenças, como por exemplo, a relevância das doenças para a seleção no melhoramento, qual doença tem apresentado maior dificuldade para a obtenção de cultivares resistentes ou como está a evolução do comportamento das linhagens para cada doença.

Resistência genética às doenças

O sucesso no desenvolvimento de cultivares de soja com resistência às diversas doenças da cultura, depende em grande parte do conhecimento que se tem sobre as fontes de resistência disponível, como por exemplo, o número de genes envolvidos e sua forma de expressão. Também é importante conhecer o modo como patógeno atua para causar a doença na planta. Dessa forma, consegue-se determinar os

melhores métodos a serem utilizados, tanto para desenvolver um genótipo resistente quanto para testá-lo contra um patógeno.

A seguir é feita a descrição das características do processo de resistência de plantas e dos métodos de avaliação utilizados, para cada uma das quatro doenças tratadas neste trabalho. Os métodos utilizados consistem em procedimentos descritos na literatura, em alguns casos adaptados de acordo com as condições e necessidades locais, mas sempre seguindo os conceitos básicos de trabalhos com fitopatógenos, sendo adotados na rotina de testes após demonstrarem comprovada eficiência e confiabilidade nos resultados.

Cancro da haste [*Diaporthe aspalathi* (sin. *D. phaseolorum* var. *meridionalis*)]

Duas espécies de fungo, *Diaporthe aspalathi* e *D. caulivora*, podem causar o cancro da haste, provocando sintomas nas hastes e folhas. No entanto, em razão da maior relevância nas condições brasileiras, são realizados testes apenas com *D. aspalathi*.

Segundo Janse van Rensburg et al. (2006), *D. phaseolorum* var. *meridionalis* (Dpm), que foi descrito causando cancro da haste da soja no sudeste dos Estados Unidos, não está intimamente relacionado com *D. phaseolorum* como se imaginava. Embora morfológicamente similar, comparações de sequências de DNA mostraram que essa espécie agrupou-se separadamente do isolado referência de *D. phaseolorum*. Como Dpm é também o causador do cancro e do declínio do rooibos (*Aspalathus linearis* – leguminosa herbácea utilizada para chá), *D. aspalathi* (Da) foi proposto como novo nome da espécie patogênica para o rooibos e a soja.

O cancro da haste, causado por Da, foi relatado pela primeira vez em soja no Brasil em fevereiro de 1989, nos municípios de Ponta Grossa, Palmeira, Castro e Tibagi, no Paraná e, em maio do mesmo ano, em Rondonópolis, Mato Grosso. Desde então, a doença espalhou-se por diversas regiões do país, chegando a causar 100% de perdas em algu-

mas lavouras e estimativa de prejuízo geral de US\$ 350 milhões entre os anos 1989 e 1995 (YORINORI, 1996).

Os sintomas nas hastes das plantas se iniciam por pequenos pontos negros que evoluem para lesões castanho-avermelhadas a negras, alongadas e elípticas. As lesões são profundas e a coloração da medula necrosada varia de castanho-avermelhada em planta ainda verde, a castanho-clara a arroxeada, em haste seca. As folhas ficam amareladas e com necrose entre as nervuras (folha carijó) (ALMEIDA et al., 2005; YORINORI, 1996). A severidade da doença depende de quando as plantas são infectadas e da condição climática, geralmente sendo maior quando as plantas são infectadas mais cedo, ainda no estágio vegetativo, e ocorrem prolongados períodos com alta umidade (RUPE, 2015).

O fungo pode infectar sementes, que servem para introduzir o patógeno em novas áreas, enquanto o inóculo para epidemias geralmente tem origem de restos culturais infectados (RUPE, 2015).

A existência de raças de *D. phaseolorum* foi relatada na Argentina, no Brasil, no Paraguai e nos Estados Unidos, utilizando-se genótipos diferenciadores com genes *Rdc* (PIOLI et al., 2001). A variabilidade genética inter e intravarietal desse fungo pode ser explicada pelo fato da forma sexual ser a causadora natural de infecções no campo, proporcionando recombinações genéticas (FERNÁNDEZ; HANLIN, 1996).

O método de controle mais eficiente para o cancro da haste é a utilização de cultivares com resistência genética (YORINORI, 1996).

Existem pelo menos cinco genes, dominantes e não alélicos, controlando a resistência, sendo o *Rdc1* e o *Rdc2* presentes na cultivar Tracy-M (KILEN; HARTWIG, 1987), o *Rdc3* na cultivar Crockett, o *Rdc4* na cultivar Dowling (BOWERS et al., 1993) e o *Rdc?* (até o momento não foi relacionado a um símbolo específico) presente nos acessos PI 230976 e PI 398469 (TYLER, 1995). No entanto, a identificação desses genes de resistência foi feita com isolados de *D. phaseolorum* do sul dos Es-

tados Unidos, mais tarde nominado de *D. phaseolorum* var. *meridionalis*. Além disso, resultados na literatura demonstraram que genes para resistência a Dpm não conferem resistência para *D. caulivora*, que foi relatado no Brasil em 2008 (COSTAMILAN et al., 2008). Dessa forma, para evitar equívocos no melhoramento para resistência ao cancro da haste, foi proposto renomear os quatro genes maiores de resistência para Dpm como *Rdm1*, *Rdm2*, *Rdm3* e *Rdm4* (PIOLI et al., 2003). Posteriormente, um estudo mostrou que o *locus* onde está presente o gene *Rdm4* na cultivar Hutcheson, é na verdade uma complexa região com pelo menos dois genes maiores, que conferem resistência a diferentes raças do patógeno. A esse segundo e novo gene foi sugerida a denominação *Rdm5* (CHIESA et al., 2009).

Nos testes de seleção das linhagens Embrapa tem sido utilizado o isolado de Da, CMES 521, da Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja. Esse isolado foi obtido de plantas da cultivar Davis/Lago no ano de 1989, no município de Palmeira, PR. Segundo Brumer (2016), em ensaio para testar a patogenicidade de isolados de Da em genótipos diferenciadores para os genes de resistência *Rdm*, o isolado CMES 521 foi classificado conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Reação de genótipos de soja diferenciadores para a resistência ao cancro da haste, inoculados com o isolado de *Diaporthe aspalathi* CMES 521.

Isolado	Diferenciadoras - % plantas mortas (reação)*						
	D8510404 (<i>Rdm1</i>)	D8510412 (<i>Rdm2</i>)	Tracy-M (<i>Rdm1/Rdm2</i> ?)	Crockett (<i>Rdm3</i>)	Dowling (<i>Rdm4</i>)	Hutcheson (<i>Rdm4</i> ?)	PI398469 (<i>Rdm</i> ?)
CMES 521	83,3 (S)	97,2 (S)	0,0 (R)	0,0 (R)	50,0 (MR)	13,9 (R)	0,0 (R)

*R = resistente; MR = moderadamente resistente; S = suscetível. Avaliação 60 dias após a inoculação.

Fonte: adaptado de Brumer (2016).

Para a realização do teste, o fungo é cultivado em placa de Petri contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA), onde são colocadas cerca de 100 pontas de palitos-de-dente esterilizados em autoclave ou estufa a 120 °C e especialmente posicionadas para que ocorra o crescimento do fungo sobre elas, conforme método adaptado do trabalho de Keeling

(1982) (YORINORI, 1996). Essas placas são incubadas à temperatura de 24 °C a 28 °C, durante cinco a sete dias. Para que a inoculação fique uniforme, é importante que os palitos estejam totalmente cobertos de micélio (Figura 2). Os genótipos a serem testadas são semeadas em vasos onde são colocadas sementes suficientes para obter de 10 a 20 plantas viáveis para a inoculação. A inoculação é feita entre 11 e 15 dias após a semeadura. As plântulas são inoculadas espetando-se o palito-de-dente colonizado cerca de 1 cm abaixo do nó cotiledonar (Figura 3). Após a inoculação, as plântulas são mantidas sob condição de umidade próxima à saturação, com aspersões intermitentes, durante um mínimo de 48 horas.

Fotos: Rafael Moreira Soares



Figura 2. Placa de Petri com pontas de palito-de-dente colonizados com *Diaporthe aspalathi*.



Figura 3. Planta de soja recém-inoculada pelo método do palito-de-dente.

A avaliação é feita entre 21 e 25 dias após a inoculação, adotando-se a seguinte escala:

S = plântula sadia - com leve ou nenhuma necrose acima e abaixo do ponto de inoculação, sem nenhum sintoma de murcha ou clorose da folha unifoliolada;

PI = plântula infectada - com necrose estendendo-se até cerca de 1 cm acima e abaixo do ponto de inoculação, mostrando apenas amarelecimento, murcha ou necrose da folha unifoliolada, com aparente desenvolvimento normal da parte superior;

PM = plântula morta - plântula com extensa necrose acima e abaixo do ponto de inoculação, com seca, murcha ou amarelecimento da folha unifoliolada, clorose e/ou necrose internerval das folhas superiores, desenvolvimento reduzido ou morte da plântula (Figura 4).

Foto: Rafael Moreira Soares



Figura 4. Plantas de soja mostrando suscetibilidade, 25 dias após inoculação com *Diaporthe aspalathi*.

As reações são classificadas com base na porcentagem de plântulas mortas (PM%), calculada conforme a seguinte fórmula:

$PM\% = (PM + PI/2) 100/TP$, onde:

PM% = porcentagem de plântulas mortas;

PM = número de plântulas mortas/vaso;

PI = número de plântulas infectadas (cada plântula infectada é considerada equivalente à meia plântula morta); e

TP = total de plântulas avaliadas.

A reação final da cultivar obedece a seguinte classificação:

R = resistente: de 0% a 25% de PM;

MR = moderadamente resistente: de 26% a 50% de PM; e

S = suscetível: acima de 50% de PM.

Devem ser utilizadas uma ou mais cultivares como padrão suscetíveis para a doença, sendo que inoculações com PM% na cultivar padrão suscetível inferior a 80% devem ser descartadas e repetidas. Algumas cultivares utilizadas como padrão suscetível são a BRAGG, a BR 23 e a COBB. Como padrões de resistência pode-se citar as cultivares MG/BR 46 (Conquista) e a CD 201.

Mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*)

Essa doença é causada pelo fungo *Cercospora sojina*, podendo atingir as folhas, hastes, vagens e sementes da soja.

A mancha olho-de-rã (MOR) foi relatada pela primeira vez no Brasil na safra 1970/71 no estado do Paraná, posteriormente no Rio Grande do Sul e, com a expansão da soja para as regiões Central e Norte, utili-

zando sementes produzidas na Região Sul, o patógeno foi disseminado por todo o país (YORINORI; KLINGELFUSS, 1999). Na safra 1987/88, ocorreu perda de cerca de meio milhão de toneladas de soja (US\$ 215,8 milhões) na Região Centro-Oeste, onde cerca de 60% da área era cultivada com cultivares suscetíveis (YORINORI, 1989).

Os sintomas se iniciam com pontuações de encharcamento, que evoluem para manchas com centro castanho-claro na face superior da folha, e cinza, na inferior, com bordos castanho-avermelhados (Figura 5). Nas hastes e vagens também causa lesões com centro cinza e bordos castanho-avermelhados. Na semente, causa rachaduras e manchas de coloração parda a cinza. É mais comum a partir do florescimento, mas pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (ALMEIDA et al., 2005; PHILLIPS, 1999). Pode ser disseminado pela semente e pelo vento, sobrevivendo na forma micelial em restos de cultura (HENNING et al., 2014; PHILLIPS, 1999).

Foto: Rafael Moreira Soares



Figura 5. Plantas de soja (cultivar Bragg) com sintoma foliar causado por *Cercospora soja*, mistura das raças 2, 4, 7 e 15, aos 25 dias após inoculação em casa de vegetação.

O uso de sementes livres do patógeno e a aplicação de fungicidas podem ajudar a reduzir a incidência da doença, mas o método de controle mais eficiente para a MOR é a utilização de cultivares com resistência genética. Em razão da capacidade do fungo desenvolver novas raças, é importante que além do uso de cultivares resistentes ou moderadamente resistentes, haja também uma diversificação de cultivares com distintas fontes de resistência (ALMEIDA et al., 2005). Muitas raças fisiológicas de *C. soja* tem sido descritas na literatura, mas há uma variação de resultados em relação ao número e à denominação das raças por causa da falta de padronização dos genótipos diferenciadores utilizados na seleção. A análise de 93 isolados coletados no Brasil, na China e nos Estados Unidos, classificando-os pela reação em 12 cultivares diferenciadoras, determinou 11 raças diferentes (MIAN et al., 2008).

Quatro genes de resistência para a MOR são atualmente reconhecidos pelo *Soybean Genetics Committee*, embora outros genes já tenham sido descritos. O gene *Rcs1* foi identificado na cultivar Lincoln (ATHOW; PROBST, 1952), o gene *Rcs2* foi identificado na cultivar Kent (PROBST et al., 1965), o gene *Rcs3*, considerado o gene que confere a resistência mais durável e robusta à doença, foi identificado na cultivar Davis (PHILLIPS; BOERMA, 1982). O *Rcs3* confere resistência para todas as raças isoladas nos Estados Unidos e no Brasil (PHILLIPS; BOERMA, 1982; YORINORI, 1992). Dois outros genes, *Rcs* (PI 594891) e *Rcs* (PI 594774) foram aprovados em 2012 (HOSKINS, 2011). Esses genes conferem alto nível de resistência, semelhante ao conferido pelo *Rcs3*, sendo que as regiões genômicas em que foram encontrados estão num intervalo de 3-4 Mbp, que contém centenas de genes. Além desses, um gene dominante conferindo resistência a raça 7 chinesa foi denominado *Rcs7* (ZOU et al., 1999), mas esse gene não é oficialmente reconhecido pelo *Soybean Genetics Committee*, que considerou insuficientes as evidências que mostrem que esse não é alélico aos genes *Rcs1*, *Rcs2* e *Rcs3*.

Nos testes de seleção das linhagens Embrapa é utilizada uma mistura de quatro raças (2, 4, 7 e 15), que foram assim classificadas por

Yorinori e Klingelfuss (1999). Os testes são realizados com plantas em vaso, em casa de vegetação. Cada genótipo é semeada colocando-se sementes suficientes para se ter de 5 a 10 plantas viáveis para a inoculação. As plantas são inoculadas nos estádios V4-V5 (três a quatro trifólios) com suspensão de conídios produzidos em laboratório, na concentração de $1,0-1,5 \times 10^4$ conídios mL⁻¹. A produção do inóculo é feita em meio de cultura com suco V8 adaptado, onde o suco de tomate é substituído por purê de tomate (purê de tomate (280 g) + ágar (17 g) + carbonato de cálcio (4,5 g) + água destilada para completar um litro). As plantas inoculadas são mantidas em casa de vegetação, sob umidade próxima da saturação por 48 horas, com nebulização automática, à temperatura de 24 °C a 28 °C.

A avaliação da reação de cada genótipo é feita entre 21 e 25 dias após a inoculação. Em cada uma das plantas no vaso, é considerado o folíolo mais infectado e feitas as avaliações com o seguinte critério de discriminação das reações: tipo de lesão (TL), com tamanho que varia de 1 mm a 5 mm, dando-se notas de 0 a 5; e nível de infecção (NI), que considera a porcentagem de área foliar infectada (% a.f.i.), dando-se notas como segue: NI 0 = 0% - ausência de sintoma; NI 1 = traços a 10% a.f.i.; NI 2 = 11% a 25% a.f.i.; NI 3 = 26% a 50% a.f.i.; NI 4 = 51% a 75% a.f.i.; e NI 5 = >75% a.f.i. A reação final de cada cultivar a ser descrita será baseada na predominância dos tipos de lesões (TL) e do nível de infecção (NI), sendo: R = resistente ou imune (NI = 0; TL = 0); MR = moderadamente resistente (NI = 1 a 2; TL = 1 a 3); S = suscetível (NI = 3 a 5; TL > 3).

Podridão radicular de *Phytophthora* (*Phytophthora sojae*)

A podridão radicular de *Phytophthora* (PRP) em soja é causada pelo oomiceto *Phytophthora sojae*, que provoca apodrecimento de sementes, morte de plântulas, redução de crescimento e morte de plantas adultas em qualquer fase de desenvolvimento (Figura 6), podendo afetar extensas áreas de cultivo, levando a ressemeadura ou à redução de estande e de produção.

Trata-se de uma doença relevante para a cultura da soja, podendo causar redução de produtividade em cultivares suscetíveis. Perdas significativas de rendimento na soja já foram relatadas na Argentina, na Austrália, no Brasil, na China, no Japão e nos Estados Unidos, sendo que neste último estima-se perdas entre 1 e 2 milhões de toneladas anualmente (SCHMITTNER, 2015).

Os sintomas da PRP podem ser observados desde a pré-emergência até a fase adulta das plantas. Pode ocorrer apodrecimento de sementes ou flacidez na radícula, progredindo para o cotilédone, e os tecidos afetados adquirem coloração marrom. Durante a emissão dos primeiros trifólios, a extremidade da raiz principal torna-se flácida e marrom, e essa descoloração estende-se e envolve o hipocótilo até o nó cotiledonar, ocorrendo o colapso do tecido. Na sequência, as folhas tornam-se amareladas, murcham e a planta seca e morre. Plantas mais desenvolvidas morrem lentamente, apresentando folhas amareladas, seguindo-se murcha completa e seca dos tecidos, permanecendo as folhas presas às plantas. No exterior da haste, circundando a mesma desde o solo, ocorre um apodrecimento marrom-escuro, que progride ao longo desta e das hastes laterais em direção ao topo da planta. Há destruição quase completa de raízes secundárias e apodrecimento da raiz principal, que adquire coloração marrom-escuro.

Foto: Rafael Moreira Soares



Figura 6. Planta de soja adulta com sintomas causados por *Phytophthora sojae*.

A resistência genética é o principal meio de controle da doença, atuando tanto de forma raça-específica (resistência completa), quanto da forma de múltiplos genes (resistência parcial - limitando o dano ao tecido radicular). Embora a Embrapa realize os testes para ambos os tipos de resistência, os dados analisados neste documento referem-se à **resistência completa** (teste do palito-de-dente), que é o teste amplamente utilizado na rotina de testes por ser mais rápido e eficiente.

Atualmente, estão relatados 14 genes de resistência dominantes (genes *Rps*) em oito loci, com uma série alélica em dois desses loci: *Rps1* (1a, 1b, 1c, 1d, 1k), *Rps2*, *Rps3* (3a, 3b e 3c), *Rps4*, *Rps5*, *Rps6*, *Rps7* (DORRANCE et al., 2004), e *Rps8* (BURNHAM et al., 2003). Todos os genes descritos, exceto *Rps2* (ligado à expressão de resistência apenas em raízes), limitam completamente o crescimento de *P. sojae* por meio da reação de hipersensibilidade no hipocótilo. Dois novos genes foram descritos recentemente, um deles chamado temporariamente de *RpsYu25* (SUN et al., 2011), e outro identificado na cultivar japonesa Waseshiroge, provavelmente alélico ao *Rps1* (SUGIMOTO et al., 2011).

Até 2004, mais de 55 raças de *P. sojae* haviam sido descritas usando-se o conjunto de diferenciais contemplando os genes *Rps1a*, *Rps1b*, *Rps1c*, *Rps1d*, *Rps1k*, *Rps3a*, *Rps6* e *Rps7*. Atualmente, a identificação de patótipos ou de fórmulas de virulência, baseados em reações de suscetibilidade ou resistência de plantas com genes *Rps*, é preferível para descrever a variabilidade dentro da espécie (DORRANCE et al., 2004). No Brasil e na Argentina, os isolados descritos na década de 1990 pertenciam à raça 1, ou seja, mostravam reação compatível ao gene *Rps7* (BARRETO et al., 1995; COSTAMILAN; BONATO, 1996). Estudo recente com 17 patótipos identificados no Brasil, mostrou que esses tiveram reação compatível com oito genes *Rps*: *Rps1d*, *Rps2*, *Rps3a*, *Rps3c*, *Rps4*, *Rps5*, *Rps6* e *Rps7*. Ou seja, esses genes não são úteis para controlar a PRP no Brasil (COSTAMILAN et al., 2013).

Nos testes de seleção das linhagens Embrapa tem sido utilizado o isolado da Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da

Embrapa Soja denominado CMES 526, que foi isolado de linhagem de soja no ano de 2007, no município de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, e apresenta o patótipo de virulência 1d,2,7. No teste de resistência completa o inóculo é preparado de forma semelhante ao teste do cancro da haste, inoculado com pontas de palito-de-dente colonizadas com o micélio de *P. sojae*, após cultivo por 10 a 15 dias em meio de cultura V8 - ágar (o suco V8 pode ser substituído por extrato de tomate sem sal). Espeta-se a ponta do palito colonizado em plantas com 10 a 15 dias após semeadura, mantendo-se a umidade saturada por 48 horas. Adota-se o mesmo método de avaliação e classificação do cancro da haste, no entanto a leitura após a inoculação ocorre mais cedo, entre 5 a 10 dias, pois *P. sojae* é bastante agressivo, causando rápida morte e decomposição do tecido de materiais suscetíveis (Figura 7). A cultivar BRS 268 é usada como padrão de suscetibilidade.

Foto: Rafael Moreira Soares



Figura 7. Plântulas de soja suscetíveis inoculadas com *Phytophthora sojae* pelo método do palito-de-dente.

Pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*)

A pústula bacteriana (PB) da soja é uma doença causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (sin. *X. campestris* pv. *glycines*). Pode ser transmitida pela semente e por restos de cultura, infectando principalmente as folhas por ferimentos e estômatos, mas também hastes, pecíolos e vagens, podendo causar desfolha prematura (GROTH, BRAUN, 1989; SINCLAIR, 2015).

A natureza do controle genético da resistência à essa bacteriose é governada por um gene recessivo que confere resistência vertical. Apesar disso, tem se verificado reações quantitativas, com níveis intermediários de resistência/suscetibilidade.

Entre os ancestrais das cultivares de soja domesticadas na América do Norte, a resistência de campo contra a PB foi identificada na cultivar CNS, que foi considerada quase imune à doença (FEASTER, 1951; HARTWIG; LEHMAN, 1951). Hartwig e Lehman (1951) determinaram que essa resistência em CNS era condicionada por um único gene recessivo, que mais tarde foi denominado *rxp* (BERNARD; WEISS, 1973). Pesquisas demonstraram que cultivares de soja com resistência derivada de CNS não apresentavam sintomas de PB após inoculações separadas com 20 isolados diferentes da bactéria (HWANG; LIM, 1987). Mesmo assim a doença continua ocorrendo e causando prejuízos na soja (GORADIA et al., 2009). O gene *rxp* também proporciona resistência ao fogo selvagem, causado por *Pseudomonas tabaci* (KENNEDY; TACHIBANA, 1973).

A literatura cita a existência de variabilidade dentro da espécie do patógeno, com ocorrência de diferentes raças e/ou estirpes, mostrando variações de virulência em relação a diferentes genótipos de soja e de outras espécies de plantas (ATHINUWAT et al., 2009; HWANG; LIM, 1998; KAEWNUM et al., 2005; PARK et al., 2008).

A Embrapa realiza os testes em casa de vegetação e a campo, que apresentam métodos distintos. A inoculação em casa de vegetação

tende a ser mais agressiva, pois o método força a entrada do patógeno na planta. No campo, a inoculação busca simular o processo natural de infecção e, em alguns casos pode gerar resultados diferentes (resistência à campo) dos obtidos em casa de vegetação. Apenas os materiais em fase final de melhoramento são testados no campo. O isolado utilizado nos testes foi adquirido junto ao Instituto Biológico/Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Campinas, SP.

No preparo do inóculo, o isolado da bactéria é cultivado na forma de estrias em tubos com meio inclinado ou placas de Petri, utilizando meio de cultura Nutriente Ágar (NA) (extrato de carne, 3 g; peptona, 5 g; ágar, 15 g; água destilada, 1 L). Desse cultivo, prepara-se uma suspensão que será vertida em placas de Petri ($200 \mu\text{L}$ a $350 \mu\text{L}$ placa⁻¹) com NA. O tempo de cultivo varia de dois a quatro dias, mantendo-se em temperatura entre 25 °C e 28 °C, no escuro. A inoculação é feita preparando-se uma suspensão da bactéria em água ou solução salina (NaCl a 0,85%), com concentração aproximada de 10^8 unidades formadoras de colônia (ufc) mL⁻¹, o que equivale aproximadamente a diluição do cultivo de uma placa de Petri completamente coberta pela bactéria, em 100 mL de água.

Para os testes em casa de vegetação, as plantas devem estar com no mínimo 15 dias após a semeadura. Essa suspensão é inoculada nas folhas pelo método do pincel (SOARES, 2009), com o seguinte procedimento: molhar um pincel (tamanho 3/4" - 19 mm) na suspensão da bactéria e passá-lo na superfície inferior da folha (Figura 8). Deve-se cortar a ponta das cerdas do pincel para torná-las mais abrasivas, mas passar o pincel levemente para não ferir em demasia a folha (esse método possibilita a ocorrência de sintomas semelhantes aos resultados de infecção natural). As plantas devem estar em ambiente com temperatura em torno de 28 °C e alta umidade relativa ou podem ser mantidas em câmara úmida por 24 horas após a inoculação.

A avaliação é feita em torno de 10 dias após a inoculação, observando-se o desenvolvimento dos sintomas da doença nos tecidos foliares. Observa-se o escurecimento/encharcamento do tecido, com bordas

amarelas, a partir dos ferimentos do pincel e do aparecimento de pústulas. Quanto maior o escurecimento e o aparecimento de pústulas, maior a suscetibilidade. A ausência do escurecimento e de pústulas indica resistência. As reações são classificadas em resistente (R - sem sintomas), moderadamente resistente (MR - encharcamento das lesões, com leve borda amarela) ou suscetível (S - encharcamento e crescimento das lesões, com pronunciado borda amarela) (Figura 9).

Fotos: Rafael Moreira Soares



Figura 8. Procedimento para a inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* com o método do pincel.

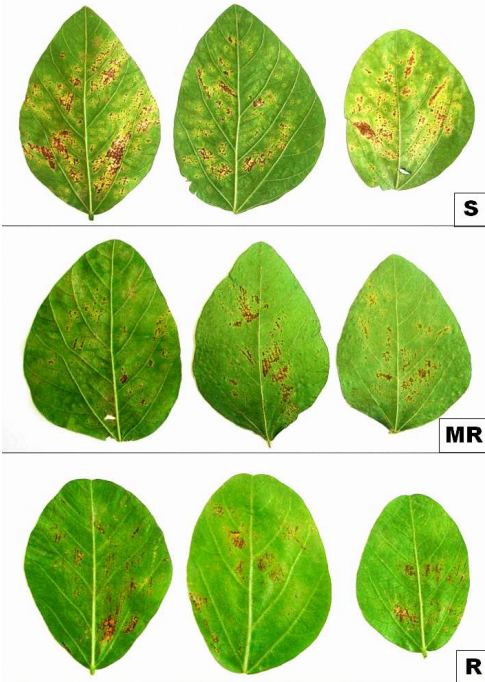


Figura 9. Sintomas das reações de linhagens de soja, após inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* com o método do pincel.

Deve-se sempre utilizar um material como padrão de suscetibilidade (sugestões: PI 340899, PI 587886). A cultivar BRS 133 (ou outra com reação semelhante) pode ser usada como padrão de resistência.

Para o teste de “resistência de campo” o método consiste em pulverizar a suspensão da bactéria em água com concentração aproximada de 10^8 ufc mL⁻¹. A inoculação (pulverização) deve ser feita em torno de 30 dias após a semeadura. É importante observar os seguintes fatores: no momento da pulverização deve haver bastante umidade no solo, de forma que a planta não esteja sofrendo estresse por falta de água, e deve ser com temperatura amena, de preferência no final da tarde. Se entre 10 e 15 dias após a inoculação não houver sintomas da doença, a pulverização deverá ser repetida. Devem ser semeadas linhas da testemunha suscetível entre as linhas, e/ou na bordadura, das cultivares a serem testadas; a semeadura deverá ser feita o mais cedo possível para evitar a incidência de outras doenças, como a ferrugem-asiática. Caso seja necessário, aplicar fungicida para controle.

A avaliação deve ser feita quando a testemunha suscetível atingir níveis consideráveis de infecção. Os sintomas são pequenas lesões negras circulares com halo amarelo ao redor, que na face inferior da folha apresentam o centro com coloração mais clara e saliente (pústula) (Figura 10). As reações devem ser classificadas, tomando como padrão a testemunha suscetível, em: suscetível (S) (muitas lesões), moderadamente resistente (MR) (poucas lesões e h) ou resistente (R) (sem lesões).

Foto: Rafael Moreira Soares



Figura 10. Sintomas de pústula bacteriana em plantas de soja inoculadas no campo.

Levantamento de dados

O levantamento de dados, relatado neste trabalho, foi baseado nas informações obtidas em testes de reação a doenças de linhagens de soja do programa de melhoramento da Embrapa, para as doenças cancro da haste, mancha olho-de-rã, podridão radicular de *Phytophthora* e pústula bacteriana (casa de vegetação e campo).

Os resultados estão descritos na Tabela 2, considerando a reação a doenças em porcentagem de materiais testados, sem comparar a quantidade total de material testado para cada doença. A seguir, é feita uma descrição do levantamento individual de cada ano e, ao final, é feita uma avaliação conjunta ao longo dos anos estudados. Os valores foram arredondados para números inteiros.

Tabela 2. Reação a doenças em porcentagem de linhagens testadas no programa de melhoramento de soja da Embrapa, entre os anos de 2008 e 2014.

Ano	Cancro da haste				Mancha olho-de-rã				Podridão radicular de <i>Phytophthora</i>				Pústula bacteriana								Média			
													Casa de vegetação				Campo							
	R*	MR	S	SI	R	MR	S	SI	R	MR	S	SI	R	MR	S	SI	R	MR	S	SI	R	MR	S	SI
2008	83	3	13	1	59	21	18	1	47	5	47	0	41	24	33	2	-	-	-	-	58	13	28	1
2009	86	2	9	3	57	14	27	3	45	5	48	1	55	14	27	4	43	32	25	0	57	14	27	2
2010	86	3	6	5	65	15	16	4	39	16	38	7	62	26	10	3	81	10	9	0	67	14	16	4
2011	88	2	5	5	58	21	16	5	35	17	34	14	66	22	4	8	92	1	1	7	68	13	12	8
2012	93	2	5	1	67	21	10	1	44	11	45	1	59	31	9	1	96	4	0	0	72	14	14	1
2013	91	2	4	3	62	21	14	3	35	9	55	1	55	30	13	2	-	-	-	-	61	15	22	2
2014	97	1	2	0	45	32	21	1	29	12	58	0	48	30	19	2	-	-	-	-	55	19	25	1
Média	89,2	2,1	6,3	2,5	58,9	20,9	17,4	2,5	39,2	10,8	46,5	3,5	55,2	25,2	16,5	3,1	77,8	11,7	8,8	1,8	62,3	14,5	20,5	2,6

*R = resistentes, MR = moderadamente resistentes, S = suscetíveis, SI = sem informação.

Ano de 2008

No ano de 2008 foram testados 14.272 materiais de soja, englobando linhagens do programa de melhoramento e acessos do banco de germoplasma da Embrapa. Com um total de 29.396 avaliações, considerando que um mesmo material foi avaliado para diferentes doenças.

Foi um ano atípico, com maior número de materiais avaliados comparado aos anos seguintes, por causa da introdução dos testes para a podridão radicular de *Phytophthora*. Um intenso trabalho de seleção para esta doença foi feito, testando-se os acessos mais importantes do banco de germoplasma, as linhas de progênie e as linhagens dos ensaios preliminares e finais do programa de melhoramento.

A proporção de linhagens resistentes ao conjunto das doenças testadas foi de 58%, restando 13% classificadas como moderadamente resistentes, 28% suscetíveis e 1% sem informação (isso ocorre principalmente por falta de germinação das sementes, entre outros problemas secundários).

Considerando-se cada doença separadamente, a maior porcentagem de linhagens suscetíveis foi observada para podridão radicular de *Phytophthora*, seguida pela pústula bacteriana, mancha olho-de-rã e cancro da haste.

Ano de 2009

No ano de 2009 foram testados 10.217 materiais de soja, englobando linhagens do programa de melhoramento e acessos do banco de germoplasma da Embrapa. Com um total de 15.904 avaliações, considerando que um mesmo material foi avaliado para diferentes doenças.

Nesse ano continuou-se a avaliar grande quantidade de materiais para a podridão radicular de *Phytophthora*, embora menor que a do ano anterior.

A proporção de linhagens resistentes ao conjunto de doenças testadas foi de 57%, restando 14% moderadamente resistentes, 27% suscetíveis e 2% sem informação.

Considerando-se cada doença separadamente, a maior porcentagem de linhagens suscetíveis foi observada para podridão radicular de *Phytophthora*, seguida pela pústula bacteriana na casa de vegetação, mancha olho-de-rã, pústula bacteriana no campo e cancro da haste.

Ano de 2010

No ano de 2010 foram testados 9.984 materiais de soja, englobando linhagens do programa de melhoramento e acessos do banco de germoplasma da Embrapa. Com um total de 42.309 avaliações, considerando que um mesmo material foi avaliado para diferentes doenças.

Embora o número de linhagens tenha sido menor que nos anos anteriores, houve um grande número de avaliações por causa dos testes de 5.724 linhas de progênie para as doenças cancro da haste, mancha olho-de-rã e podridão radicular de *Phytophthora*.

A proporção de linhagens resistentes ao conjunto das doenças testadas foi de 67%, restando 14% moderadamente resistentes, 16% suscetíveis e 4% sem informação.

Considerando-se cada doença separadamente, a maior porcentagem de linhagens suscetíveis foi observada para podridão radicular de *Phytophthora*, seguida pela mancha olho-de-rã, pústula bacteriana na casa de vegetação, pústula bacteriana no campo e cancro da haste.

Ano de 2011

No ano de 2011 foram testados 8.114 materiais de soja, englobando linhagens do programa de melhoramento e acessos do banco de germoplasma da Embrapa. Com um total de 15.296 avaliações, considerando que um mesmo material foi avaliado para diferentes doenças. Nesse ano houve um maior número de testes com a mancha olho-de-rã, sendo avaliadas 6.255 linhagens para essa doença.

A proporção de linhagens resistentes ao conjunto de doenças testadas foi de 68%, restando 13% moderadamente resistentes, 12% suscetíveis e 7,6% sem informação.

Considerando-se cada doença separadamente, a maior porcentagem de linhagens suscetíveis foi observada para podridão radicular de *Phytophthora*, seguida pela mancha olho-de-rã, cancro da haste, pústula bacteriana na casa de vegetação e pústula bacteriana no campo.

Ano de 2012

No ano de 2012 foram testados 8.849 materiais de soja, englobando linhagens do programa de melhoramento e acessos do banco de germoplasma da Embrapa. Com um total de 21.440 avaliações, considerando que um mesmo material foi avaliado para diferentes doenças.

A proporção de linhagens resistentes ao conjunto de doenças testadas foi de 70%, restando 14% moderadamente resistentes, 14% suscetíveis e 1% sem informação.

Considerando-se cada doença separadamente, a maior porcentagem de linhagens suscetíveis foi observada para podridão radicular de *Phytophthora*, seguida pela mancha olho-de-rã, pústula bacteriana na casa-de-vegetação, cancro da haste e pústula bacteriana no campo.

Ano de 2013

No ano de 2013 foram testados 5.133 materiais de soja, englobando linhagens do programa de melhoramento e acessos do banco de germoplasma da Embrapa. Com um total de 12.495 avaliações, considerando que um mesmo material foi avaliado para diferentes doenças.

A proporção de linhagens resistentes ao conjunto de doenças testadas foi de 61%, restando 15% moderadamente resistentes, 22% suscetíveis e 2% sem informação.

Considerando-se cada doença separadamente, a maior porcentagem de linhagens suscetíveis foi observada para podridão radicular de *Phytophthora*, seguida pela mancha olho-de-rã, pústula bacteriana na casa de vegetação e cancro da haste.

Ano de 2014

No ano de 2014 foram testados 2.766 materiais de soja, englobando linhagens do programa de melhoramento e acessos do banco de germoplasma da Embrapa. Com um total de 6.700 avaliações, considerando que um mesmo material foi avaliado para diferentes doenças.

A proporção de linhagens resistentes ao conjunto de doenças testadas foi de 55%, restando 19% moderadamente resistentes, 25% suscetíveis e 1% sem informação.

Considerando-se cada doença separadamente, a maior porcentagem de linhagens suscetíveis foi observada para podridão radicular de *Phytophthora*, seguida pela mancha olho-de-rã, pústula bacteriana na casa-de-vegetação e cancro da haste.

Análise conjunta dos anos

A análise conjunta mostrou que sempre houve uma predominância de materiais resistentes, principalmente em razão da base genética de resistência ao cancro da haste, que está bem estabelecida e tem se mostrado estável à medida que não há relatos do aparecimento da doença no campo. Em 2008, a porcentagem de materiais suscetíveis era maior, decaindo a partir de 2009 e só voltando a crescer em 2013. A porcentagem de materiais moderadamente resistentes mostrou certa constância com leve aumento ao longo dos anos (Figura 11).

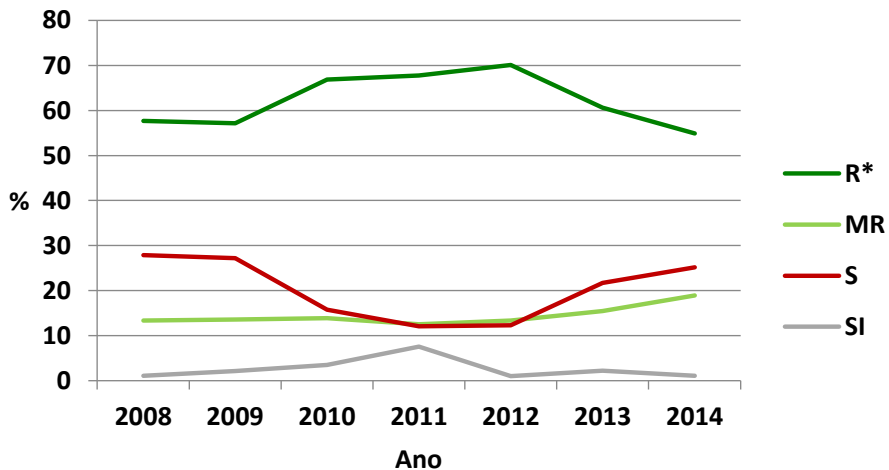


Figura 11. Proporção das linhagens Embrapa resistentes (R), moderadamente resistentes (MR), suscetíveis (S), sem informação (SI), entre os anos de 2008 e 2014, ao conjunto de doenças testadas rotineiramente.

O número total de linhagens e de avaliações realizadas (Figura 12) veio reduzindo nos dois últimos anos, já que linhagens do ensaio preliminar de segundo ano, previamente testadas, deixaram de participar das avaliações. Isso permitiu que parte da mão de obra disponível pudesse ser aplicada em testes envolvendo outras doenças importantes como ferrugem-asiática, mancha-alvo e mofo-branco.

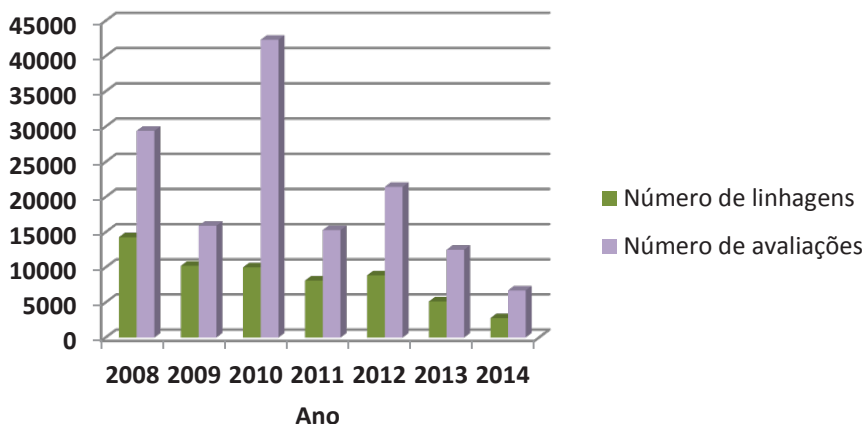


Figura 12. Número de linhagens testadas e de avaliações realizadas rotineiramente quanto à reação às doenças, realizadas entre os anos de 2008 e 2014.

Analisando-se as doenças separadamente (Figura 13), pode-se observar que o cancro da haste já apresentava, em 2008, maior porcentagem de materiais resistentes, sendo que essa porcentagem aumentou gradativamente durante os anos seguintes. Para a mancha olho-de-rã, de 2008 a 2013 houve uma relativa estabilidade na reação dos materiais, sendo que os resistentes ficaram ao redor de 60%. A partir de 2013 houve redução dos materiais resistentes (45%) e aumento dos moderadamente resistentes (32%) e suscetíveis (21%). Seguindo um padrão semelhante, a pústula bacteriana avaliada em casa de vegetação mostrou uma redução no número de materiais resistentes a partir de 2011. Isso pode ter ocorrido em função da introgressão de novas linhagens e mesmo cultivares suscetíveis a algumas dessas doenças nos cruzamentos e também de novos acessos recentemente disponibili-

zados pelo banco de germoplasma de soja da Embrapa. Para a podridão radicular de *Phytophthora*, que tem sido a doença com maior percentual de linhagens suscetíveis nos testes, ocorreu um aumento ainda maior a partir de 2012, mostrando o desafio que essa doença impõe ao desenvolvimento de cultivares resistentes.

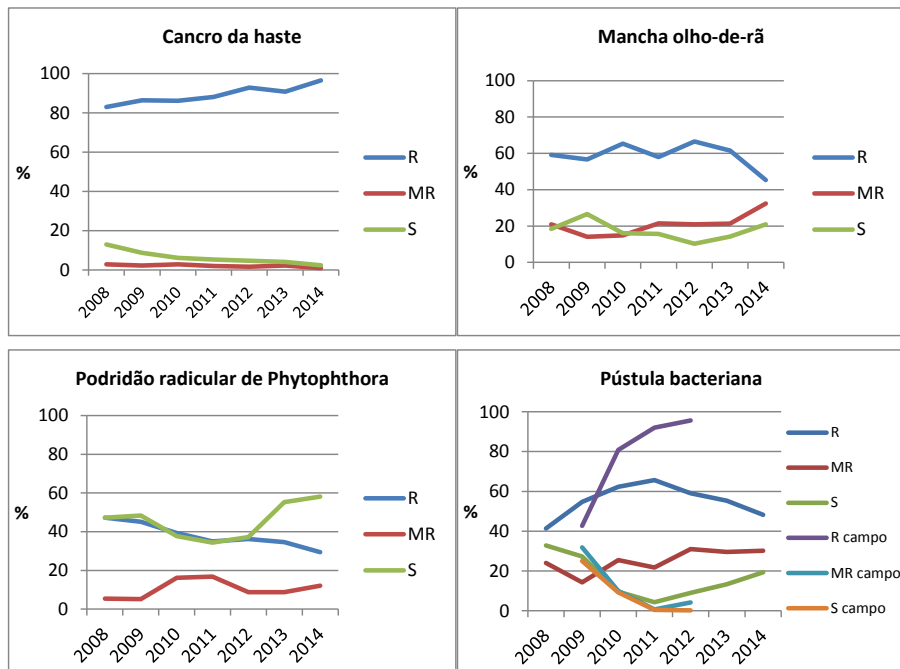


Figura 13. Proporção das linhagens Embrapa resistentes (R), moderadamente resistentes (MR), suscetíveis (S), sem informação (SI), entre os anos de 2008 e 2014, para cada uma das doenças testadas rotineiramente.

Comentários finais

A doença que apresenta, segundo a série avaliada, a maior dificuldade para obtenção de cultivares resistentes é a podridão radicular de *Phytophthora*, seguida pela mancha olho-de-rã. Em relação às doenças cancro da haste e pústula bacteriana, os materiais estão com uma melhor base genética de resistência.

Embora o cancro da haste, a mancha olho-de-rã e a pústula bacteriana sejam doenças de baixa ocorrência, ou com ocorrência sem causar danos de importância econômica no campo, a seleção para resistência deve continuar porque existe o risco de epidemias, caso sejam cultivados materiais suscetíveis em áreas extensas. Além disso, a disponibilidade de fontes de resistência é um privilégio que não deve ser desprezado nos programas de melhoramento, em razão das grandes vantagens que o uso dessas fontes pode trazer ao manejo de doenças.

A partir do ano de 2013, em função da redução do número de materiais testados, foi possível intensificar os testes para outras doenças importantes, como ferrugem-asiática, mancha-alvo e mofo-branco.

Ocorreram marcantes alterações no sistema de produção que envolve a cultura da soja, principalmente a partir do início desse século, influenciadas por fatores como o cultivo de segunda safra de verão (safrinha) e a ocorrência da ferrugem-asiática. Com isso, ocorreram alterações nas características das cultivares desejadas pelo agricultor, que passou a utilizar materiais cada vez mais precoces, adaptados a semeaduras mais antecipadas quando comparados a materiais mais antigos. Junto a isso, passaram a ser disponibilizadas cultivares geneticamente modificadas, como as resistentes ao herbicida glifosato de primeira e segunda geração (RR1 e RR2), as resistentes a lagartas (soja Bt) e a soja resistente aos herbicidas do grupo das imidazolinonas (Cultivance). Isso tudo formou um cenário ainda mais desafiador para a geração de cultivares com resistência múltipla às diversas doenças, pois a necessidade de resistência às doenças não diminuiu, e precisa estar presente nas cultivares mais modernas.

Esse trabalho reforça a posição e o empenho da Embrapa em relação a utilização da resistência genética em soja para o controle de doenças, pois dependendo da funcionalidade dessa resistência, ela pode ser a forma mais econômica, eficiente e ambientalmente sustentável de controle.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a todos os membros das equipes de Fitopatologia e Melhoramento da Embrapa Soja que de alguma forma colaboraram com a execução dos trabalhos descritos nesta publicação, em especial a Guilherme Goulart Filho, Luís Antonio Cajolla e Natanael Bento da Silva (Fundação Meridional).

Dedicamos essa publicação a memória do Dr. José Tadashi Yorinori, precursor destes ensaios na Embrapa e idealizador de grande parte das metodologias de avaliação descritas aqui.

Referências

- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A.; GODOY, C.V.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C. Doenças da soja (*Glycine max*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. v. 2. Doenças de plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 569-588.
- ATHINUWAT, D.; PRATHUANGWONG, S.; CURSINO, L.; BURR, T. *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* soybean cultivar virulence specificity is determined by avrBs3 homolog avrXg1. **Phytopathology**, v. 99, p. 996-1004, 2009.
- ATHOW, K.; PROBST, A.H. The inheritance of resistance to frogeye leaf spot of soybeans. **Phytopathology**, v. 42, p. 660-662, 1952.
- BARRETO, D.; STEGMAN DE GURFINKEL, B.; FORTUGNO, C. Races of *Phytophthora sojae* in Argentina and reaction of soybean cultivars. **Plant Disease**, v. 79, p. 599-600, 1995.
- BERNARD, R.L.; WEISS, M.G. Qualitative genetics. In: CALDWELL, B.E. (ed.) **Soybeans: improvement, production, and uses**. Madison, WI: American Society of Agronomy; 1973. p. 117-154.

BOWERS, G.R.; NGELEKA, K.; SMITH, O.D. Inheritance of stem canker resistance in soybeans cultivars Crockett and Dowling. **Crop Science**, v. 33, p. 67-70, 1993.

BRUMER, B.B. **Caracterização morfológica, molecular e patogênica de isolados de *Diaporthe aspalathi* e validação de marcadores SNPs associados à resistência ao cancro da haste na soja**. 2016. 105f. Dissertação (Mestrado) - Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

BURNHAM, K.D.; DORRANCE, A.E.; FRANCIS, D.M.; FIORITTO, R.J.; ST. MARTIN, S.K. *Rps8*, a new locus in soybean for resistance to *Phytophthora sojae*. **Crop Science**, v. 43, p. 101-105, 2003.

CHIESA, M.A.; PIOLI, R.N.; MORANDI, E.N. Specific resistance to soybean stem canker conferred by the *Rdm4* locus. **Plant Pathology**, v. 58, p. 1032-1038, 2009. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2009.02145.x

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.2 - Safra 2014-2015, n. 10**. Brasília: CONAB, 2015. 109 p.

COSTAMILAN, L.M.; BONATO, E. R. Identificação de raça de *Phytophthora sojae* e avaliação da resistência de cultivares de soja à podridão da raiz e da haste. **Fitopatologia Brasileira**, v. 21, suplemento, p. 353, 1996.

COSTAMILAN, L.M.; CLEBSCH, C.C.; SOARES, R.M.; SEIXAS, C.D.S.; GODOY, C.V.; DORRANCE, A.E. Pathogenic diversity of *Phytophthora sojae* pathotypes from Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 135, p. 845-853, 2013. DOI: 10.1007/s10658-012-0128-9.

COSTAMILAN, L.M.; YORINORI, J.T.; ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S.; BINNECK, E.; ARAÚJO, M.R.; CARBONARI, J.A. First report of *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* infecting soybean plants in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 5, p. 381-385, 2008.

DORRANCE, S.E.; JIA, H.; ABNEY, T.S. Evaluation of soybean differentials for their interaction with *Phytophthora sojae*. **Plant Health Progress**, 2004. DOI: 10.1094/PHP-2004-0309-01-RS. Disponível em: <<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2004/psojae/>>. Acesso em: 14 out. 2015.

FEASTER, C.V. Bacterial pustule disease on soybean: artificial inoculation, varietal response, and inheritance of resistance. **Missouri Agricultural Experiment Station Bulletin**, n. 487, 1951.

FERNÁNDEZ, F.A.; HANLIN, R.T. Morphological and RAPD analyses of *Diaporthe phaseolorum* from soybean. **Mycologia**, v. 88, p. 425-440, 1996.

GORADIA, L.; HARTMAN, G.; DANIEL, S.L. Evaluation of glyphosate-tolerant soybean cultivars for resistance to bacterial pustule. **European Journal of Plant Pathology**, v. 124, p. 331-335, 2009. DOI: 10.1007/s10658-008-9410-2.

GROTH, D.E.; BRAUN, E.J. Survival, seed transmission, and epiphytic development of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* in the north-central United States. **Plant Disease**, v. 73, p. 326-330, 1989.

HARTWIG, E.E.; LEHMAN, S.G. Inheritance of resistance to the bacterial pustule disease in soybeans. **Agronomy Journal**, v. 43, p. 226-229, 1951.

HENNING, A.A.; ALMEIDA, A.M.R.; GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S.; YORINORI, J.T.; COSTAMILAN, L.M.; FERREIRA, L.P.; MEYER, M.C.; SOARES, R.M.; DIAS, W.P. **Manual de identificação de doenças de soja**. 5. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 76p. (Embrapa Soja. Documentos, 256).

HOSKINS, A. J. **Genetic mapping of soybean resistance genes to frog-eye leaf spot in five Chinese Plant Introductions and efficiency of early generation selection for low phytate soybean lines**. 2011. 91f. Dissertation (Ph.D.) - University of Georgia, Athens.

HWANG, I.; LIM, S.M. Pathogenic variation in soybeans of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*. **Phytopathology**, v. 77, p. 1709, 1987.

HWANG, I.; LIM, S.M. Pathogenic variability in isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*. **Korean Journal Plant Pathology**, v. 14, p. 19-22, 1998.

JANSE VAN RENSBURG, J.C.; LAMPRECHT, S.C.; GROENEWALD, J.Z.; CASTLEBURY, L.A.; CROUS, P.W. Characterisation of *Phomopsis* spp. associated with die-back of rooibos (*Aspalathus linearis*) in South Africa. **Studies in Mycology**, v. 55, p. 65-74, 2006.

KAEWNUM, S.; PRATHUANGWONG, S.; BURR, T.J. Aggressiveness of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* isolates to soybean and hypersensitivity responses by other plants. **Plant Pathology**, v. 54, p. 409-415, 2005. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2005.01176.x.

KENNEDY, B.W.; TACHIBANA, H. Bacterial diseases. In: CALDWELL, B.E. (ed). **Soybeans: improvement, production, and uses**. Madison, WI: American Society of Agronomy; p. 491-504, 1973.

KILEN, T.C.; HARTWIG, E.E. Identification of single genes controlling resistance to stem canker in soybean. **Crop Science**, v. 27, p. 220-222, 1987.

MIAN, M.A.R.; MISSAOUI, A.M.; WALKER, D.R.; PHILLIPS, D.V.; BOERMA, H.R. Frogeye leaf spot of soybean: a review and proposed race designations for isolates of *Cercospora sojina* Hara. **Crop Science**, v. 48, p. 14-24, 2008.

PARK, H.J.; HAN, S.W.; OH, C.; LEE, S.; RA, D.; LEE, S.H.; HEU, S. Avirulence gene diversity of *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* isolated in Korea. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, p. 1500-1509, 2008.

PHILLIPS, D.V. Frogeye leaf spot. In: HARTMAN, G.L.; SINCLAIR, J.B.; RUPE, J.C. (Ed.). **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. APS Press: St. Paul, MN, 1999. p. 20-21.

PHILLIPS, D.V.; BOERMA, H.R. Two genes for resistance to race 5 of *Cercospora sojina* in soybeans. **Phytopathology**, v. 72, p. 764-766, 1982.

PIOLI, R.N.; MORANDI, E.N.; BISARO, V. First report of soybean stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* in Argentina. **Plant Disease**, v. 85, p. 95, 2001.

PIOLI, R.N.; MORANDI, E.N.; MARTÍNEZ, M.C.; LUCCA, F.; TOZZINI, A.; BIZARO, V.; HOPP, E. Morphologic, molecular and pathogenic characterization of *Diaporthe phaseolorum* variability in the core soybean producing area of Argentina. **Phytopathology**, v. 93, p. 136-145, 2003.

PROBST, A.H.; ATHOW, K.L.; LAVIOLETTE, F.A. Inheritance of resistance to race 2 of *Cercospora sojina* in soybeans. **Crop Science**, v. 5, p. 332, 1965.

RUPE, J.C. Stem canker. In: HARTMAN, G.L.; RUPE, J. C.; SIKORA, .E.J.; DOMIER, L.L.; DAVIS, J.A.; STEFFEY, K.L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 85-88.

SCHMITTHENNER, A.F. Phytophthora root and stem rot. In: HARTMAN, G.L.; RUPE, J. C.; SIKORA, .E.J.; DOMIER, L.L.; DAVIS, J.A.; STEFFEY, K.L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 73-76.

SINCLAIR, J.B. Bacterial pustule. In: HARTMAN, G.L.; RUPE, J. C.; SIKORA, .E.J.; DOMIER, L.L.; DAVIS, J.A.; STEFFEY, K.L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 19-20.

SOARES, R.M. Desenvolvimento de método para inoculação e avaliação da reação de genótipos de soja à pústula bacteriana. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 34, p. S3, ago. 2009. Suplemento, ref. 4. Edição dos Resumos do XLII Congresso Brasileiro de Fitopatologia; Annual Meeting of the Brazilian Phytopathological Society, Rio de Janeiro, ago. 2009.

SUGIMOTO, T.; YOSHIDA, S.; KAGA, A.; HAJIKA, M.; WATANABE, K.; AINO, M.; TATSUDA, K.; YAMAMOTO, R.; MATOH, T.; WALKER, D.R.; BIGGS, A.R.; ISHIMOTO, M. Genetic analysis and identification of DNA markers linked to a novel *Phytophthora sojae* resistance gene in the Japanese cultivar Waseshiroge. **Euphytica**, v. 182, p. 133-145, 2011.

SUN, S.; WU, X.L.; ZHAO, J.M.; WANG, Y.C.; TANG, Q.H.; YU, D.Y.; GAI, J.Y.; XING, H. Characterization and mapping of *RpsYu25*, a novel resistance gene to *Phytophthora sojae*. **Plant Breeding**, v. 130, p. 139-143, 2011.

TYLER, J.M. Additional sources of stem canker resistance in soybean plant introductions. **Crop Science**, v. 35, p. 376-377, 1995.

YORINORI, J.T. Management of foliar fungal diseases in Brazil. In: COPPING, L.G., GREEN, M.B.; REES, R.T. (Ed.). **Pest management in soybean**. London: Elsevier Applied Science, 1992. p. 185-193.

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

YORINORI, J.T.; KLINGELFUSS, L.H. Novas raças de *Cercospora sojina* em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 509-512, 1999.

ZOU, J.; DONG, W.; YANG, Q.; CAO, Y.; CHEN, S. Inheritance of resistance to race 7 of *Cercospora sojina* in soybeans and RAPD tagging of the resistance gene. **Chinese Science Bulletin**, v. 44, p. 452-455, 1999.

Embrapa

Soja

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**



CGPE 13132