

CIRCULAR TÉCNICA

50

Passo Fundo, RS
Fevereiro, 2020

Fontes de resistência à *Phytophthora sojae* em linhagens de soja da Embrapa Trigo, em 2018/2019

Leila Maria Costamilan
Paulo Fernando Bertagnolli
Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi
Cláudia Cristina Clebsch



Fontes de resistência à *Phytophthora sojae* em linhagens de soja da Embrapa Trigo, em 2018/2019¹

Introdução

Apodridão-radicular de *Phytophthora* em soja causa, anualmente, perdas entre um milhão e dois milhões de toneladas de grãos no mundo (Schmitthenner; Dorrance, 2015; Hartman, 2015), principalmente nos Estados Unidos, na China, no Japão, na Argentina, no Brasil e na Austrália. Os prejuízos são decorrentes de falhas no estande inicial, de necessidade de ressemeaduras e de reduções no peso e na produção de grãos. No Brasil, prejuízos foram registrados nas safras 2005/2006 e 2018/2019 (Deuner et al., 2019) em várias lavouras do Rio Grande do Sul e do Paraná. Na região sul do Brasil, há relatos anuais de sua ocorrência no início da safra, principalmente em áreas de multiplicação de sementes de novas cultivares de soja.

Os sintomas nas plantas de soja podem ser observados desde a pré-emergência até a fase adulta. Causa apodrecimento de sementes ou flacidez na radícula, progredindo ao cotilédone, e os tecidos afetados adquirem coloração marrom. Plântulas morrem durante a emergência, com hipocótilo apresentando anasarca e coloração marrom escura. Durante a emissão das primeiras folhas trifolioladas, 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, causando amarelamento de folhas, murcha e morte. Plantas adultas morrem lentamente, com folhas amareladas e tecido seco entre as nervuras, seguindo-se de murcha completa e de seca de tecidos, permanecendo as folhas presas às plantas. Há apodrecimento da raiz principal e destruição quase completa de raízes secundárias, que

¹ Leila Maria Costamilan, Engenheira-agrônoma, M.Sc. em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; Paulo Fernando Bertagnolli, Engenheiro-agrônomo, Dr. em Fitotecnia/Plantas de Lavoura, pesquisador da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; Mercedes Concórdia Carrão-Panizzi, Engenheira-agrônoma, Dra. em Ciência de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; Cláudia Cristina Clebsch, Bióloga, Mestre em Ecologia, analista da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

adquirem coloração marrom. O sintoma característico é a coloração marrom escura da haste, desde o solo, progredindo para hastes laterais em direção ao topo da planta. Em planta adulta, os tecidos apodrecidos da raiz e da haste permanecem firmes. A ausência de plantas que morreram precocemente é compensada pelo desenvolvimento de plantas vizinhas que permaneceram sadias.

A resistência genética é o principal meio de controle da doença, e pode manifestar-se de três formas:

- Como resistência completa, ou raça-específica, mediada por genes maiores (*Rps*) no hospedeiro. Mais de 20 genes de resistência dominantes estão relatados (Zhong et al., 2018), e os principais são *Rps1a*, 1b, 1c, 1d, 1k, 2, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7 e 8 (Burnham et al., 2003; Dorrance et al., 2004). Todos os genes descritos, exceto *Rps2*, limitam completamente o crescimento de *P. sojae* através de reação de hipersensibilidade no hipocótilo. Atualmente, a identificação de patótipos ou de fórmulas de virulência baseada em reações de suscetibilidade ou resistência de plantas com genes *Rps* é utilizada para estudos sobre a variabilidade do patógeno, e a série diferencial mais usada conta com os genes *Rps1a*, 1b, 1c, 1d, 1k, 2, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7 e 8 (Dorrance et al., 2004). Os genes *Rps1a*, 1c, 1k, 3a e 6 são amplamente utilizados em cultivares comerciais de soja nos Estados Unidos; no Brasil, os genes *Rps1a*, 1b, 1c, 1k, 3a e 8 ainda são efetivos, mas não *Rps6*, pois até 60% da população brasileira de *P. sojae* apresenta reação de efetividade para este gene, o que não o candidata para inserção em cultivares comerciais (Costamilan et al., 2013).
- Resistência radicial, mediada apenas por *Rps2*. O hipocótilo apresenta reação suscetível ou intermediária (50% de plantas mortas ou com lesões longas), mas as raízes permanecem sadias.
- Resistência parcial, também conhecida como de campo, de planta adulta ou tolerância. É herdada quantitativamente, por uma série de genes menores, e expressa-se pela redução de extensão de colonização de tecidos radiciais, sendo avaliada pela capacidade de resistência à penetração, ou à colonização ou à multiplicação do patógeno. Só é funcional a partir da formação da primeira folha trifoliolada, sendo efetiva

contra todos os patótipos de *P. sojae* (Mideros et al., 2007; Schmitthenner; Dorrance, 2015). Genótipos de soja podem apresentar diferentes níveis de desenvolvimento de sintomas, desde muito baixo até alto (Schmitthenner et al., 1994; Dorrance et al., 2003). Este tipo de resistência pode ser superado em ambientes com alta pressão da doença (Zhong et al., 2018).

Os programas de melhoramento de soja buscam, principalmente, lançar cultivares com resistência única mediada por genes *Rps*, em que o reconhecimento das proteínas de *P. sojae* inicia a imunidade desencadeada por efetores, resultando em resistência completa. Embora altamente eficaz, a resistência completa é específica à população de *P. sojae* presente. Adicionalmente, o uso de genes *Rps* aumenta a pressão de seleção sobre o patógeno, fazendo com que a população se adapte e, potencialmente, ganhe virulência, de tal modo que a cultivar se torne suscetível.

Para áreas onde a doença é predominante, indica-se conjugar as estratégias de resistência completa com parcial, além de tratamento de sementes com fungicida (Schmitthenner; Dorrance, 2015). Para a situação brasileira, o manejo com a utilização de cultivares de soja com qualquer um dos genes *Rps*1a, 1b, 1c, 1k, 3a ou 8, além de alta resistência parcial, poderia ser altamente efetivo para áreas de incidência da doença (Costamilan et al., 2013).

Os objetivos deste trabalho foram identificar linhagens de soja, do programa de melhoramento genético da Embrapa Trigo, resistentes à podridão-radicular de *Phytophthora*, além de determinar possíveis genes de resistência completa *Rps* e níveis de resistência parcial nestas linhagens.

Os testes foram realizados em casa de vegetação da Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS, no ano de 2019, entre julho e novembro.

Rotina de pré-seleção: em 2019, foram avaliados 1.405 genótipos, na geração F5. Doze sementes de cada genótipo foram semeadas em substrato agrícola (terra vegetal) contido em potes plásticos de 500 mL de capacidade, preparando-se um pote por genótipo. Utilizou-se o isolado Ps2.4, de fórmula de virulência *Rps*1d, 2, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7, correspondente à população patogênica de maior frequência registrada no Brasil até 2013 (Costamilan et al., 2013). No mesmo dia da semeadura, colônias do isolado Ps 2.4 foram

repicadas para meio de cultura de manutenção (Costamilan; Clebsch, 2016), contendo pontas de palitos de dentes montadas, na vertical, sobre base de papel. As placas foram mantidas em sala de incubação, em temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 14 dias, até colonização da extremidade do palito. A inoculação ocorreu 14 dias após a semeadura, inserindo-se uma ponta de palito colonizada no hipocótilo de cada planta, mantendo-se dez plantas por vaso. A cultivar BRS 244RR foi usada como testemunha suscetível. Seguiu-se período de 48 h de alta umidade relativa, com nebulização de água por 30 s a cada 3 min. A leitura da reação ocorreu entre cinco e sete dias após a inoculação, contando-se o número total de plantas inoculadas e o número de plantas mortas, por genótipo. Somente genótipos sem plantas mortas foram selecionados para prosseguirem no programa de melhoramento genético da Embrapa Trigo. A partir do resultado deste primeiro teste, os genótipos resistentes poderiam conter os genes *Rps1a*, 1b, 1c, 1k, 3a ou 8 atuando na resistência completa.

Identificação de genes *Rps* (resistência completa): o ensaio foi realizado com 26 linhagens de soja em avaliação em VCU, do programa de melhoramento da Embrapa Trigo em 2018/2019 (Tabela 1), avaliadas como resistentes à podridão-radicular de *Phytophthora*.

Foram preparados três potes para cada genótipo, com dez plantas cada, além da testemunha suscetível BRS 244RR. As linhagens foram inoculadas com três patotipos de *P. sojae* (um patotipo por pote). Foram usados os seguintes patotipos, cada um com uma fórmula distinta de virulência a genes *Rps*: Ps14.4 (fórmula de virulência *Rps3a*, 3b, 8), R4 (*Rps1a*, 1c) e Ps36.1 (*Rps1b*, 3a, 8). As plantas foram inoculadas entre 10 dias e 12 dias após a semeadura, pelo método de introdução de macerado de micélio e meio de cultura na haste, 1 cm abaixo do nó cotiledonar. O ambiente de casa de vegetação foi mantido com elevada umidade relativa nas primeiras 48 h, pela nebulização de água por 30 s a cada 3 min. A leitura da reação foi realizada sete dias após a inoculação, considerando-se efetiva a reação até 30% de plantas mortas, e inefetiva, a reação com mortalidade acima de 70% (Costamilan; Clebsch, 2016).

Tabela 1. Linhagens de soja da Embrapa Trigo em ensaios de valor de cultivo e uso (VCU) em 2018/2019, avaliadas para tipos de resistência à podridão-radicular de *Phytophthora*.

Linhagem	Resistência completa (possível gene <i>Rps</i>) ^(a)	Resistência parcial (nota e tipo) ^(b)
BRB16-263344	1k	2,33, ARP
BRB17-237860	3a/8	1,00, ARP
BRB17-239613	1a/1c	4,33, MRP
BRB17-240767	1a/1c	6,67, AS
BRB18-241472	Indeterminado ^c	3,00, ARP
BRB18-244748	1k	2,00, ARP
BRB18-247967	1k (provável) ^c	2,00, ARP
BRB18-249184	1k	2,00, ARP
BRR17-76998	1a/1c	3,00, ARP
BRR17-76999	1a/1c	4,00, MRP
BRR17-78258	1a/1c	3,00, ARP
BRR17-78266	1k	2,00, ARP
BRR17-79057	1b	2,00, ARP
BRR17-79196	1a/1c	4,33, MRP
BRR17-80208	1a/1c	4,67, MRP
BRR18-87401	1k	2,33, ARP
BRR18-87406	1k	1,00, ARP
BRR18-89710	1k	2,00, ARP
BRR18-92393	1k	1,00, ARP
BRR18-92394	1k	1,33, ARP
BRR18-93146	1a/1c	1,33, ARP
BRR18-93154	1a/1c	1,67, ARP
PFR150563	1a/1c	1,67, ARP
PFR170883	1a/1c	2,67, ARP
PFR170934	1a/1c	2,00, ARP
PFR171218	1k	1,00, ARP

^(a) Avaliação sequencial com inoculação na haste dos patótipos Ps2.4 (fórmula de virulência 1d, 2, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7), Ps14.4 (*Rps*3a, 3b, 8), R4 (*Rps*1a, 1c) e Ps36.1 (*Rps*1b, 3a, 8).

^(b) Avaliação de severidade de apodrecimento radicular com o patótipo Ps34.1 (fórmula de virulência *Rps*1a, 1c, 1d, 1k, 2, 3b, 3c, 4, 5, 7 e reação intermediária para *Rps*1b, 3a e 6).

^(c) Não foi possível determinar o gene *Rps* presente nesta linhagem.

Identificação de resistência parcial: as linhagens de soja em VCU foram testadas com o método de camada de micélio do patógeno posicionado abaixo das sementes (Dorrance et al., 2003), utilizando-se o isolado Ps34.1 (fórmula de virulência *Rps1a*, 1c, 1d, 1k, 2, 3b, 3c, 4, 5, 7 e reação intermediária para *Rps1b*, 3a e 6). Prepararam-se três potes por linhagem, com cinco sementes em cada, posicionadas 5 cm acima do inóculo, entre camadas de vermiculita umedecida. Em um quarto pote, não foi colocada a camada de inóculo, para servir como padrão de sanidade de raízes. Após 21 dias, as raízes foram lavadas e avaliadas visualmente com auxílio da seguinte escala de notas (Dorrance et al., 2003): 1- sem apodrecimento de raízes, 2- traços de apodrecimento, 3- terço inferior da massa de raízes apodrecido, 4- dois terços inferiores da massa de raízes apodrecidos, 5- todas raízes podres + 10% de plantas mortas, 6- 50% de plantas mortas + diminuição moderada de crescimento da parte aérea, 7- 75% de plantas mortas + severa diminuição de crescimento, 8- 90% de plantas mortas, e 9- todas plantas mortas. As linhagens foram consideradas com alta resistência parcial com nota média até 3,0; de moderada resistência parcial, com nota média entre 3,1 e 5,0; moderadamente suscetíveis, com nota média entre 5,1 e 6,0; e altamente suscetíveis, com nota média superior a 6,1.

Em 2019, após a pré-seleção, 1.102 (91%) foram considerados resistentes, 125 (9%) apresentaram reação intermediária e 178 (13%) foram suscetíveis. Das 26 linhagens de soja testadas em VCU, 12 apresentaram resistência completa conferida pelos genes *Rps1a* ou 1c, 10 linhagens foram resistentes devido ao gene *Rps1k*, 1 linhagem pelo *Rps1b* e 1 linhagem com *Rps3a* ou 8. Outras duas linhagens não apresentaram reação consistente; uma delas (BRB18-247967), possivelmente, possui o gene *Rps1k* e, para BRB18-241472, não foi possível determinar o gene presente. A alta resistência parcial predominou nestas linhagens. Os resultados das linhagens em VCU são apresentados na Tabela 1.

Referências

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, n. 1, p. 101-105, 2003.

COSTAMILAN, L. M.; CLEBSCH, C. C. **Técnicas utilizadas para estudos com *Phytophthora sojae* na Embrapa Trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2016. (Embrapa Trigo. Documentos online, 163). 31 p. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/151335/1/ID43845-2016DO163.pdf>>. Acesso em: 28 nov. 2019.

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, n. 4, p. 845-853, 2013. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/257558431_Pathogenic_diversity_of_Phytophthora_sojae_pathotypes_from_Brazil>. Acesso em: 28 nov. 2019.

DEUNER, C. C.; NOVAKOWISKI, J. H.; COSTAMILAN, L. M.; KLEIN, V. A.; CARDOSO, C. A. de A. Problema de estabelecimento na cultura da soja, safra 2018/2019: podridão de sementes, morte de plântulas e podridão radicular. **Revista Plantio Direto**, n. 167, p. 34-40, 2019.

DORRANCE, A. E.; McCLURE, S. A.; ST. MARTIN, S. K. Effect of partial resistance on *Phytophthora* stem rot incidence and yield of soybean in Ohio. **Plant Disease**, v. 87, n. 3, p. 308-312, 2003. Doi: 10.1094/PDIS.2003.87.3.308.

DORRANCE, A. E.; JIA, H.; ABNEY, T. S. Evaluation of soybean differentials for their interaction with *Phytophthora sojae*. **Plant Health Progress**, 2004. Disponível em: <<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2004/psojae>>. Acesso em: 5 dez. 2019. Doi: 10.1094/PHP-2004-0309-01-RS.

HARTMAN, G. L. Worldwide importance of soybean pathogens and pests. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (Eds.). **Compendium of soybean diseases and pests**, 5th ed. St. Paul: APS Press, 2015. p. 4-5.

MIDEROS, S.; NITA, M.; DORRANCE, A. E. Characterization of components of partial resistance, *Rps2*, and root resistance to *Phytophthora sojae* in soybean. **Phytopathology**, v. 97, n. 5, p. 655-662, 2007. Doi: 10.1094 / PHYTO-97-5-0655.

SCHMITTHENNER, A. F.; HOBE, M.; BHAT, R. G. *Phytophthora sojae* races in Ohio over a 10-year interval. **Plant Disease**, v. 78, n. 3, p. 269-276, 1994.

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

ZHONG, C.; SUN, S.; YAO, L.; DING, J.; DUAN, C.; ZHU, Z. Fine mapping and identification of a novel *Phytophthora* root rot resistance locus *RpsZS18* on chromosome 2 in soybean. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 44, p. 1-14, 2018. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5797622/>>. Acesso: 28 nov. 2019. Doi: 10.3389/fpls.2018.00044.

Exemplares desta edição
podem ser adquiridos na:

Embrapa Trigo

Rodovia BR 285, km 294
Caixa Postal 3081
99050-970 Passo Fundo, RS
Telefone: (54) 3316-5800
Fax: (54) 3316-5802
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
versão on-line (2020)

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Trigo

Presidente

Gilberto Rocca da Cunha

Vice-Presidente

Luiz Eichelberger

Secretária

Gessi Rosset

Membros

*Alberto Luiz Marsaro Júnior, Alfredo do
Nascimento Junior, Ana Lídia Variani Bonato,
Elene Yamazaki Lau, Fabiano Daniel De Bona,
Gisele Abigail Montan Torres, Maria Imaculada
Pontes Moreira Lima*

Normalização bibliográfica

Rochelle Martins Alvorcem (CRB 10/1810)

Tratamento das ilustrações

Márcia Barrocas Moreira Pimentel

Editoração eletrônica

Márcia Barrocas Moreira Pimentel

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Foto da capa

Leila Maria Costamilan



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



CGPE 15632