

CIRCULAR TÉCNICA

63

Passo Fundo, RS
Maio, 2021

Resistência a *Phytophthora sojae* em linhagens de soja da Embrapa, em 2020

Leila Maria Costamilan
Paulo Fernando Bertagnolli
Ana Cláudia Barneche de Oliveira
Carlos Lasaro Pereira de Melo
Rafael Moreira Soares
Cláudia Cristina Clebsch



Resistência a *Phytophthora sojae* em linhagens de soja da Embrapa, em 2020¹

Introdução

A podridão-radicular de *Phytophthora* em soja causa prejuízos principalmente no sul do Brasil, durante o período de emergência das plantas, levando a falhas no estande inicial e à necessidade de ressemeaduras. Perdas foram registradas nas safras 2005/2006 e 2018/2019 (Deuner et al., 2019) e em 2019/2020, em várias lavouras do Rio Grande do Sul e do Paraná.

Os sintomas nas plantas de soja podem ser observados desde a pré-emergência até a fase adulta. 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.

O controle da doença é baseado em resistência genética, que pode manifestar-se de três formas: como resistência completa ou raça-específica, como resistência radicular e como resistência parcial ou de campo.

A resistência completa é mediada por genes maiores (*Rps*) no hospedeiro. 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). Atualmente, já são conhecidos 27 genes maiores em

¹ Leila Maria Costamilan, engenheira-agrônoma, mestre em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS. Paulo Fernando Bertagnolli, engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia/Plantas de Lavoura, pesquisador da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS. Ana Claudia Barneche de Oliveira, engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia/Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Carlos Lasaro Pereira de Melo, engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR. Rafael Moreira Soares, engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia/Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR. Cláudia Cristina Clebsch, bióloga, mestre em Ecologia, analista da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

soja conferindo resistência completa a *P. sojae* (Yang et al., 2020). No Brasil, os genes *Rps1a*, *1b*, *1c*, *1k*, *3a* e *8* apresentam boa resposta à maioria das populações de *P. sojae* (Costamilan et al., 2013). Embora altamente eficaz, a resistência completa é específica à população de *P. sojae* presente.

A resistência radicular é mediada apenas por *Rps2*. O hipocótilo apresenta reação suscetível ou intermediária (50% de plantas mortas ou com lesões longas), mas as raízes permanecem sadias (Schmitthenner; Dorrance, 2015).

A 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 radiculares. É avaliada pela capacidade de resistência à penetração, ou à colonização ou à multiplicação do patógeno. A resistência parcial 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).

Para áreas onde a doença é predominante, indica-se conjugar as estratégias de resistência completa com parcial, além de tratamento de sementes com fungicidas à base de matalaxil/mefenoxam (Schmitthenner; Dorrance, 2015).

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

Rotina de pré-seleção: os testes foram realizados em casa de vegetação da Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS, durante o ano de 2020.

Inicialmente, todos os patótipos a serem utilizados durante o ano (Tabela 1) foram recuperados do armazenamento em nitrogênio líquido e individualmente inoculados na seguinte série diferencial de genes *Rps*: *1a*, *1b*, *1c*, *1d*, *1k*, *2*, *3a*, *3b*, *3c*, *4*, *5*, *6*, *7* e *8* (Tabela 2) com a cultivar BRS 244RR servindo como testemunha suscetível, com o objetivo de confirmar se a fórmula de virulência de cada patótipo, anteriormente descrita, estava mantida após o período de armazenamento.

Tabela 1. Patotipos de *Phytophthora sojae* utilizados para seleção de genótipos de soja resistentes à podridão-radicular de *Phytophthora* e para postulação de genes *Rps* e resistência parcial em linhagens de soja, na Embrapa Trigo.

Patotipo	Fórmula de virulência (genes <i>Rps</i>)
Ps2.4	1d, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7
R4	1a, 1c, 7
Ps14.4	1d, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 7, 8
Ps36.1	1b, 1d, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7, 8
Ps45	1a, 1b, 1c, 1d, 1k, 2, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7, 8

Tabela 2. Cultivares ou linhagens de soja contendo genes *Rps*, usadas na série diferencial de 14 genes para teste de virulência de patotipos de *Phytophthora sojae*.

Gene	Genótipo ou cultivar de soja	Fonte do gene <i>Rps</i>
<i>rps</i> (suscetível)	BRS 244RR	-
<i>Rps1a</i>	L59-731 (PI 547677)	Blackhawk
<i>Rps1b</i>	L77-1863 (PI 547842)	Harrell
<i>Rps1c</i>	L75-3735 (PI 547834)	Lee 68
<i>Rps1d</i>	L99-3312	PI 103091
<i>Rps1k</i>	L77-1794 (PI 547890)	Kingwa
<i>Rps2</i>	L76-1988 (PI 547838)	CNS
<i>Rps3a</i>	L83-570 (PI 547862)	PI 86972-1
<i>Rps3b</i>	L91-8347 (PI 591509)	PI 172901
<i>Rps3c</i>	L92-7857	PI 340046
<i>Rps4</i>	L85-2352	PI 86050
<i>Rps5</i>	L85-3059 (PI 547876)	PI 91160
<i>Rps6</i>	L89-1581 (PI 591511)	Altona
<i>Rps7</i>	L93-3258 (PI 591512)	Harosoy
<i>Rps8</i>	PI 399073	não conhecido

Fonte: adaptada de Dorrance et al. (2004).

Após a confirmação das fórmulas de virulências, os trabalhos foram iniciados com a seleção de linhagens resistentes. Doze sementes de cada genótipo foram semeadas em substrato agrícola (terra vegetal) contido em potes plásticos de 500 mL, preparando-se um pote por genótipo. Utilizou-se o patotipo Ps2.4,

de fórmula de virulência *Rps1d*, 2, 3*b*, 3*c*, 4, 5, 6, 7, correspondente à população patogênica de maior frequência registrada no Brasil até 2013 (Costamilan et al., 2013). O emprego deste patotipo permite a postulação da presença de oito dos 27 genes de resistência já descritos para soja (Yang et al., 2020). No mesmo dia da semeadura, colônias de Ps2.4 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 °C ± 3 °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, calculando-se a relação entre número de plantas mortas pelo número total de plantas inoculadas multiplicado por 100, por linhagem. Adotou-se a seguinte escala de reação: resistente (R, até 30% de plantas mortas); intermediário (I, entre 31% e 69% de plantas mortas); suscetível (S, igual ou superior a 70% de plantas mortas).

Com este método, foram avaliadas 808 linhagens de soja na geração F5 da Embrapa Trigo e 80 linhagens com origem na Embrapa Clima Temperado. Oitenta e nove por cento dos genótipos (787) foram considerados resistentes, 5% (48) apresentaram reação intermediária e 6% (53) foram classificados como suscetíveis.

Na Embrapa Trigo, somente genótipos não apresentando plantas mortas são selecionados para prosseguirem no programa de melhoramento genético. Como foram testadas com o patotipo Ps2.4, de fórmula de virulência *Rps1d*, 2, 3*b*, 3*c*, 4, 5, 6, 7, podemos postular que as linhagens resistentes poderiam conter os genes *Rps1a*, 1*b*, 1*c*, 1*k*, 3*a* e/ou 8 atuando na resistência completa.

Identificação de genes *Rps* (resistência completa): este ensaio foi realizado com 44 linhagens da Embrapa Trigo (em testes de Valor de Cultivo e Uso -VCU - na safra 2020/2021, Tabela 3), que foram avaliadas em anos anteriores como resistentes à podridão-radicular de *Phytophthora* com o patotipo Ps2.4. Também foram testadas 23 linhagens oriundas do programa de melhoramento da Embrapa Soja (Tabela 4), avaliadas na Embrapa Soja

como resistentes ou intermediárias para resistência completa com o isolado CMES 526, de fórmula de virulência *Rps1d*, 2, 4, 5, 7.

Tabela 3. Linhagens de soja da Embrapa Trigo em ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) na safra 2020/2021, 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)
PFR170883	1a/1c	3,7 MRP
PFR170934	1a/1c	3,3 MRP
PFR171218	1k	2,3 ARP
PFR181254	1a/1c	3,3 MRP
PFR181267	1a/1c	3,7 MRP
PFR181269	1a/1c	4,0 MRP
PFR181277	1a/1c	3,0 ARP
PFR181291	1a/1c	4,0 MRP
PFR181293	1a/1c	4,3 MRP
PFR181306	1a/1c	5,0 MRP
PFR181314	1a/1c	4,7 MRP
PFR181316	1a/1c	4,3 MRP
PFR181324	1a/1c	5,0 MRP
PFR181338	1a/1c	4,3 MRP
PFR181342	1a/1c	3,0 ARP
BRR17-78266	1k	7,0 AS
BRR17-79057	1b	3,7 MRP
BRR17-79196	1a/1c	5,0 MRP
BRR17-80208	1a/1c	6,0 MS
BRR18-86556	1k	2,3 ARP
BRR18-86561	1a/1c	4,0 MRP
BRR18-86941	1a/1c	3,0 ARP
BRR18-87402	1k	4,0 MRP
BRR18-87408	1k	4,0 MRP
BRR18-87553	1k	4,7 MRP
BRR18-90642	1k	7,0 AS

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Linhagem	Resistência completa (possível gene <i>Rps</i>) ^(a)	Resistência parcial (nota e tipo) ^(b)
BRR18-91900	1a/1c	5,0 MRP
BRR18-91907	1a/1c	5,3 MS
BRR18-92452	1a/1c	6,0 MS
BRR18-93656	1a/1c	6,3 AS
BRR18-85647	1k	5,0 MRP
BRR18-85964	1a/1c	3,7 MRP
BRR18-85967	1a/1c	4,0 MRP
BRR18-89710	1k	4,3 MRP
BRR18-91905	1a/1c	6,0 MS
BRR18-91913	1a/1c	4,0 MRP
BRR18-91914	1a/1c	6,7 AS
BRR18-91934	1a/1c	3,7 MRP
BRR18-92008	1k	4,3 MRP
BRR18-92393	1k	6,3 AS
BRR18-93146	1k	4,7 MRP
BRR18-93208	1k	5,7 MS
BRR18-94659	1a/1c	5,7 MS
BRR18-96771	1a/1c	4,7 MRP

^(a)Avaliação com inoculação na haste dos patótipos de *Phytophthora sojae*: Ps2.4 (fórmula de virulência *Rps1d*, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7), Ps14.4 (*Rps1d*, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 7, 8), R4 (*Rps1a*, 1c, 7) e Ps36.1 (*Rps1b*, 1d, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7, 8).

^(b)Avaliação de severidade de apodrecimento radicular com o patótipo de *Phytophthora sojae* Ps45 (fórmula de virulência *Rps1a*, 1b, 1c, 1d, 1k, 2, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7, 8). Alta resistência parcial (ARP): nota média até 3,0; moderada resistência parcial (MRP): nota média entre 3,1 e 5,0; moderada suscetibilidade (MS): nota média entre 5,1 e 6,0; e alta suscetibilidade (AS): nota média igual ou superior a 6,1.

Foram preparados seis potes para cada genótipo de soja a ser avaliado, e para cada um dos possíveis genes de resistência presentes. Neste último caso, sementes da série diferencial com os genes *Rps1a*, 1b, 1c, 1k, 3a e 8 foram empregadas para fins de comparação de reação, e consequente postulação da presença dos genes indicados. Foram semeadas oito sementes em cada pote, deixando-se sete plantas no momento da inoculação.

Tabela 4. Linhagens de soja da Embrapa Soja em ensaios de valor de cultivo e uso (VCU) em 2020/2021, avaliadas para possíveis genes *Rps* de resistência à podridão-radicular de *Phytophthora*.

Linhagem	Resistência completa (possível gene <i>Rps</i>) ^(a)
BR16-1694	Não identificado
BRR15-3363	1a/1c
BRR15-55044	1k
BRR16-72910	1a/1c
BRR16-111592	1k
BRR16-111668	1k
BRR16-111671	Não identificado
BRR16-120458	1k
BRR16-125363	1a/1c
BRB16-200222	1a/1c
BRB16-210286	1a/1c
BRB16-238163	1a/1c
BRB17-242159	1a/1c
BRB17-241458	1k
BRB17-238132	1k
BRB17-208165	1a/1c
BRR17-79229	1k
BRR17-828830	1k
BRR17-82959	Não identificado
BRR17-55049	1k
BRR17-53284	1a/1c
BRR17-79864	1k
BRR17-80055	Nenhum gene <i>Rps</i>

^(a)Avaliação com inoculação na haste dos patótipos de *Phytophthora sojae*: CMES 526 (fórmula de virulência *Rps1d*, 2, 4, 5, 7), Ps2.4 (1d, 3b, 4, 5, 6, 7), Ps14.4 (*Rps1d*, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 7, 8), R4 (*Rps1a*, 1c, 7) e Ps36.1 (*Rps1b*, 1d, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7, 8).

As linhagens foram inoculadas com três patótipos de *P. sojae* (dois potes para cada patótipo), com fórmulas distintas de virulência: Ps14.4 (*Rps1d*, 3a, 3b, 3c, 4, 5, 7, 8), R4 (*Rps1a*, 1c, 7) e Ps36.1 (*Rps1b*, 1d, 3a, 3b, 3c, 4,

5, 6, 7, 8). As linhagens da Embrapa Soja também foram inoculadas com o patotipo Ps2.4.

A inoculação ocorreu entre 10 e 14 dias após a semeadura, pelo método de introdução, na haste, de macerado de micélio e meio de cultura, 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 entre cinco e sete dias após a inoculação, considerando-se resistente a reação de até 30% de plantas mortas, e suscetível, a reação com número de plantas mortas igual ou superior a 70% (Costamilan; Clebsch, 2016).

Das 44 linhagens de soja da Embrapa Trigo (Tabela 3), 30 apresentaram resistência ao patotipo R4 e suscetibilidade aos demais patotipos usados. Esse resultado permite a postulação da presença dos genes maiores *Rps1a* e/ou *Rps1c*, responsáveis pela resistência completa observada. Treze linhagens mostraram resistência devida ao gene *Rps1k*. Uma linhagem (BRR17-79057), mostrou resistência frente ao patotipo Ps36.1, postulando-se, assim, a presença do gene de resistência *Rps1b*.

Entre as linhagens da Embrapa Soja (Tabela 4), dez apresentaram resistência devida ao *Rps1k*. Nove linhagens apresentaram resistência devido à presença dos genes *Rps1a* e/ou *Rps1c*. Em três linhagens (BR16-1694, BRR16-111671, e BRR17-82959), não foi possível identificar o(s) gene(s) maiores potencialmente envolvidos na resistência, com o uso deste método. Estas três linhagens apresentaram reação intermediária aos quatro patotipos inoculados, indicando uma não uniformidade genética que pôde ser confirmada pela observação de diferentes colorações de hipocótilo entre as plantas de uma mesma linhagem. A linhagem BRR17-80055 foi caracterizada pela reação suscetível a quatro patotipos (Ps14.4, R4, Ps36.1 e Ps2.4), o que configura a ausência de genes *Rps* dentre aqueles fazendo parte das fórmulas de virulência.

Identificação de resistência parcial: foi realizada para 44 linhagens de soja em VCU da Embrapa Trigo, utilizando-se o patotipo Ps45 (fórmula de virulência *Rps1a*, *1b*, *1c*, *1d*, *1k*, *2*, *3a*, *3b*, *3c*, *4*, *5*, *6*, *7*, *8*) inoculado com o método de camada de micélio do patógeno posicionado abaixo das sementes (Dorrance et al., 2003; Costamilan; Clebsch, 2016). 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, segundo 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 (ARP) com nota média até 3,0; de moderada resistência parcial (MRP), com nota média entre 3,1 e 5,0; com moderada suscetibilidade (MS), com nota média entre 5,1 e 6,0; e alta suscetibilidade (AS), com nota média igual ou superior a 6,1. Na Tabela 3, observa-se que, pela alta resistência parcial demonstrada, foram destaque cinco linhagens: PFR171218, PFR181277, PFR181342, BRR18-86556 e BRR18-86941. Outras cinco linhagens, BRR17-78266, BRR18-90642, BRR18-93656, BRR18-91914 e BRR18-92393, apresentaram alta suscetibilidade ao patótipo utilizado, configurando baixa resistência parcial.

Referências

- 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: 17 nov. 2020.
- 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. DOI 10.1007/s10658-012-0128-9.
- 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 & Tecnologia Agrícola**, v. 167, n. 28, p. 34-40, jan./fev. 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, March 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. DOI 10.1094/PHP-2004-0309-01-RS.

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.; 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. Part. 1, p. 73-76. DOI 10.1094/9780890544754.002.

YANG, J.; ZHENG, S.; WANG, X.; YE, W.; ZHENG, X.; WANG, Y. Identification of resistance genes to *Phytophthora sojae* in domestic soybean cultivars from China using particle bombardment. **Plant Disease**, v.104, p.1888-1893, 2020. DOI 10.1094/PDIS-10-19-2201-R" <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2201-RE>

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

Publicação digital - PDF (2021)

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Trigo

Presidente

Gilberto Rocca da Cunha

Vice-Presidente

Luiz Eichelberger

Secretária

Marialba Osorski dos Santos

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

