

## RESULTADOS DE PESQUISA DA EMBRAPA SOJA - 2001

### Doenças e Nematóides





**República Federativa do Brasil**

**Fernando Henrique Cardoso**  
*Presidente*

**Ministério da Agricultura e do Abastecimento**

**Marcus Vinicius Pratini de Moraes**  
*Ministro*

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**

**Conselho de Administração**

**Márcio Fontes de Almeida**  
*Presidente*

**Alberto Duque Portugal**  
*Vice-Presidente*

**Dietrich Gerhard Quast**

**José Honório Accarini**

**Sérgio Fausto**

**Urbano Campos Ribeiral**  
*membros*

**Diretoria-Executiva da Embrapa**

**Alberto Duque Portugal**  
*Diretor-Presidente*

**Dante Daniel Giacomelli Scolari**

**Bonifacio Hideyuki Nakasu**

**José Roberto Rodrigues Peres**

*Diretores-Executivos*

**Embrapa Soja**

**Caio Vidor**

*Chefe-Geral*

**José Renato Bouças Farias**

*Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento*

**Alexandre José Cattelan**

*Chefe Adjunto de Comunicação e Negócios*

**Vania Beatriz Rodrigues Castiglioni**

*Chefe Adjunto de Administração*

**Exemplares desta publicação podem ser solicitadas a:**

Área de Negócios Tecnológicos da Embrapa Soja

Caixa Postal 231 - Distrito de Warta

86001-970 - Londrina, PR

Telefone 43 3371-6000 Fax 43 3371-6100

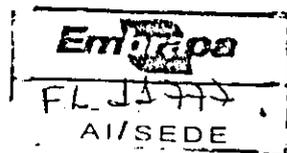
As informações contidas neste documento somente poderão ser reproduzidas com a autorização expressa do Comitê de Publicações da Embrapa Soja



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

ISSN 1516-781X

Dezembro, 2002



## **Documentos 194**

# **RESULTADOS DE PESQUISA DA EMBRAPA SOJA - 2001**

## **Doenças e Nematóides**

**Organizado por:**

Clara Beatriz Hoffmann-Campo  
Embrapa Soja

Odilon Ferreira Saraiva  
Embrapa Soja



Londrina, PR  
2002

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Soja**

Rodovia Carlos João Strass - Distrito de Warta

Caixa Postal, 231 - CEP: 86001-970

Fone: (43) 3371 6000

Fax: (43) 3371 6100

<http://www.cnpso.embrapa.br>

E-mail: [sac@cnpso.embrapa.br](mailto:sac@cnpso.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: *José Renato Bouças Farias*

Secretária-Executiva: *Clara Beatriz Hoffmann Campo*

Membros: *Alvaro Manuel Rodrigues de Almeida*

*Ivan Carlos Corso*

*José de Barros França Neto*

*José Francisco Ferraz de Toledo*

*Léo Pires Ferreira*

*Norman Neumaier*

*Odilon Ferreira Saraiva*

Supervisor editorial: *Odilon Ferreira Saraiva*

Normalização bibliográfica: *Ademir B. Alves de Lima*

Editoração eletrônica: *Helvio Borini Zemuner*

**1ª edição**

1ª impressão (12/2002): tiragem 400 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

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

---

Resultados de pesquisa da Embrapa Soja - 2001: doenças e nematóides / organizado por Clara Beatriz Hoffmann-Campo, Odilon Ferreira Saraiva. - Londrina: Embrapa Soja, 2002.

30p. ; 25,5cm. - (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; n.194)

1. Soja-Doença-Brasil. 2. Soja-Nematóide. 3. Doença de planta. I. Hoffmann-Campo, Clara Beatriz (Org). II. Saraiva, Odilon Ferreira (Org). III. Título. IV. Série.

---

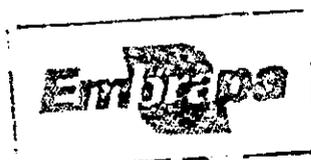
CDD 633.34930981

# APRESENTAÇÃO

*Na publicação anual dos Resultados de Pesquisa da Embrapa Soja, os pesquisadores desta instituição relatam os principais avanços obtidos em seus projetos de pesquisa e de transferência de tecnologia em soja, girassol e trigo. Muitos desses resultados não são conclusivos e não têm como objetivo a recomendação de tecnologias, mas registrar nossa memória técnica e informar pesquisadores, professores e assistência técnica, sobre o andamento das pesquisas, durante apenas uma safra. Sendo assim, a utilização das informações, contidas nesta publicação, por parte da assistência técnica, deve ser feita com cuidado. As tecnologias prontas para serem utilizadas no campo são discutidas em reuniões específicas e repassadas para a assistência técnica e produtores rurais, como Sistemas de Produção ou outras publicações da Série Documentos ou Circular Técnica. As de caráter emergencial, são divulgadas na forma de Comunicado Técnico, enquanto os resultados de interesse para a comunidade científica são publicados em revistas periódicas especializadas, de alcance nacional ou internacional.*

*Para facilitar o manuseio, a publicação foi dividida em nove volumes, contemplando os resultados dos projetos de uma área específica de conhecimento ou áreas correlatas. O presente volume apresenta os resultados obtidos em 2001, pelas equipes de Doenças e Nematóides.*

**José Renato Bouças Farias**  
Chefe de Pesquisa e Desenvolvimento  
Embrapa Soja





# *SUMÁRIO*

1. CONTROLE DE NEMATÓIDES FITOPARASITAS ASSOCIADOS À CULTURA DA SOJA .....	07
1.1. Ecologia e Controle do Nematóide de Cisto da Soja (04.0.98.333.01) .....	08
1.2. Manejo da Cultura da Soja e do Solo para o controle do Nematóide de Cisto (04.0.98.333.02) .....	09
1.3. Levantamento, Identificação e Controle de Nematóides formadores de Galhas em Soja (04.0.98.333.03) .....	14
2. CONTROLE INTEGRADO DE DOENÇAS DA SOJA .....	17
2.1. Caracterização, Epidemiologia e Controle de Viroses de Soja .....	18
2.2. Controle Integrado de Doenças da Soja no Norte do Cerrado Brasileiro (04.1999.335-05) .....	22
2.3. Patologia e Tratamento de Sementes de Soja (04.1999.335-06) .....	26



# CONTROLE DE NEMATÓIDES FITOPARASITAS ASSOCIADOS À CULTURA DA SOJA

# 1

Nº do Projeto: 04.0.98.333

Líder: João Flávio Veloso Silva

Nº de Subprojetos que compõem o projeto: 04

Unidades/Instituições participantes: Embrapa Soja e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Os nematóides fitoparasitas causam perdas significativas na produção de soja em todo o mundo. As espécies mais freqüentemente associadas a danos na cultura são *Heterodera glycines*, o nematóide de cisto da soja (NCS), e os nematóides formadores de galha, *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*. O NCS já infesta mais de 2.500.000 ha de soja no Brasil. A sua detecção inicial foi na safra 1991/92 e, em 2001 já está presente em 99 municípios de sete estados brasileiros (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul). Dependendo do nível de infestação e das condições edafoclimáticas, o NCS pode provocar perdas de até 100% no rendimento da soja, tornando-se o principal problema fitossanitário da soja nos países onde ocorre. No Brasil, já causou grandes prejuízos, tendo sido causa de mudanças no sistema de produção agrícola nas áreas infestadas do cerrado. Quanto aos nematóides de galha, infestam área superior àquela infestada pelo NCS e também causam grandes perdas na produção da soja.

Para o NCS, este projeto que ora se encerra, teve como objetivo principal desenvolver tecnologias que garantissem a produção da soja em áreas infestadas, através das seguintes ações: a) monitoramento das áreas infestadas; b) identificação das raças ocorrentes no Brasil; c) identificação de marcadores moleculares associados a genes de virulência, d) estudo da dinâmica populacional nos sistemas de produção dominantes; e) estudo da variabilidade espaço-temporal; f) determinação do nível populacional de dano; g) definição de rotações e sucessões de culturas mais indicadas para as áreas infestadas; h) identificação de possíveis interações com fatores controlados pelo manejo do solo (físico, químico e biológico) e i) avaliação, em casa-de-vegetação, da reação de linhagens/cultivares de soja às raças dominantes nas diversas regiões produtoras. As ações foram implementadas nos subprojetos 04.0.98.333-01 e 04.0.98.333-02.

Com relação aos nematóides de galha, o projeto teve também como objetivo reduzir os danos causados à produção de soja, através, das seguintes ações: a) monitoramento das áreas infestadas; b) identificação das espécies/raças ocorrentes no País; c) conhecimento da hospedabilidade das principais culturas utilizadas em rotação/sucessão com a soja; d) seleção de fontes e cultivares de

soja resistentes; e e) indicação de esquemas de manejo, envolvendo a rotação de culturas e o uso de cultivares resistentes. As ações foram implementadas no subprojeto 04.0.98.333-03.

Foi objetivo, ainda, o aprimoramento de técnicas moleculares para a identificação de espécies e raças de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines*. Essas ações foram implementadas pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, no subprojeto 04.0.98.333-04.

### 1.1. Ecologia e Controle do Nematóide de Cisto da Soja (04.0.98.333.01)

João Flávio V. Silva<sup>1</sup>, Antônio Garcia<sup>1</sup>,  
Álvaro Manuel Rodrigues Almeida<sup>1</sup>,  
José Eivaldo Pereira<sup>1</sup>

Neste subprojeto, buscou-se acompanhar a disseminação do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, no Brasil, inclusive ao nível de raça, com vistas a suportar trabalhos de melhoramento genético (resistência) e de difusão de métodos de controle nas regiões atingidas. Da mesma forma, aspectos básicos da biologia do nematóide foram estudados nas condições brasileiras, objetivando otimizar o controle.

O nematóide de cisto da soja foi detectado no Brasil, em 1992, e já se encontra disseminado por sete estados, infestando aproximadamente 2.500.000 ha. A Embrapa Soja, juntamente com os parceiros da pesquisa estadual e da iniciativa privada, desenvolve um dinâmico programa de melhoramento genético de soja, sendo que várias cultivares de soja com resistência têm sido lançadas, diminuindo as perdas. Entretanto, como o nematóide possui elevada variabilidade

genética, o que possibilita a quebra da resistência dessas cultivares melhoradas, o processo precisa ser contínuo.

Este subprojeto foi iniciado em 1998 e as atividades desenvolvidas durante o ano de 2001 foram as seguintes:

#### 1.1.1. Levantamento de ocorrência

O objetivo desta atividade foi acompanhar a dispersão do nematóide de cisto para áreas indenizadas. Assim, as avaliações foram feitas preferencialmente em propriedades de regiões onde o nematóide ainda não fora detectado.

Em 2001, foram analisadas pelo Laboratório de Nematologia da Embrapa Soja, 453 amostras de solo, com o objetivo de avaliar a presença do NCS. Entre as amostras, 298 fizeram parte de levantamento conduzido no Paraná. Em São Paulo, foram coletadas 24 amostras; em Alagoas, 11; no Piauí, 16, e 68 no Rio Grande do Sul. A Embrapa Soja também apoiou levantamento conduzido pela Embrapa Trigo no Rio Grande do Sul, através do treinamento de técnicos de laboratório da região para realização das análises. A ocorrência do patógeno foi inédita nos municípios gaúchos de Capão do Cipó, Catuípe, Entre-Ijuís, Espumoso, Eugênio de Castro, Jóia, Pejuçara, São Paulo das Missões, Santo Ângelo,

<sup>1</sup>Embrapa Soja

Tupanciretã e Vitória das Missões. O NCS também foi detectado pela primeira vez no Sudoeste do Paraná, nos municípios de Assis Chateaubriand, Marechal Cândido Rondon, Tupãssi e Nova Aurora.

### 1.1.2. Monitoramento de raças

Em 2001, 9 populações do nematóide de cisto, originárias de diferentes partes do Brasil, foram caracterizadas a nível de raça. O objetivo desta atividade é o direcionamento do uso de fontes de resistência nos programas de melhoramento da Embrapa, a partir do conhecimento da distribuição de raças do nematóide no País.

No Mato Grosso, foram detectadas a raça 3 em Don Aquino, a raça 2 em Pedra Preta, e a raça 6 em Tapurah. Em Minas Gerais, somente a raça 3 foi detectada em Iraí de Minas, João Pinheiro e Presidente Olegário. A raça 3 também foi detectada em Tupãssi, PR. Em Chapadão do Céu, GO, e Chapadão do Sul, MS, foram detectadas as raças 9 e 5, respectivamente.

O novo quadro de distribuição das raças, no país, é o seguinte: Goiás, raças 3, 4, 5, 6, 9 e 14; Mato Grosso, raças 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 14 e 14; Mato Grosso do Sul, raças 3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14; Minas Gerais, São Paulo e Paraná, raça 3; Rio Grande do Sul, raças 3 e 6.

### 1.1.3. Avaliação da resistência de genótipos de soja ao NCS

Em 2001, linhagens e cultivares do Programa de Melhoramento da Embrapa Soja foram avaliadas frente a algumas raças do NCS de maior importância, em casa-de-vegetação. O objetivo é o

desenvolvimento de cultivares superiores e resistentes ao nematóide de cisto.

Frente à raça 3, 46 linhagens foram avaliadas, além dos genótipos diferenciadores (Lee 86, Pickett, Peking, PI 88788, PI 90763). A partir do cruzamento PI 437654 x Hartwig, foram obtidas 706 plantas que foram avaliadas frente a raça 4<sup>+</sup> e as plantas resistentes foram replantadas. Além do apoio ao desenvolvimento de linhagens resistentes à raça 4<sup>+</sup>, estas avaliações buscam estudar os efeitos genéticos envolvidos na resistência de linhagens soja a essa raça.



## 1.2. Manejo da cultura da soja e do solo para o controle do nematóide de cisto (04.0.98.333.02)

Antonio Garcia<sup>1</sup>, João Flávio V. Silva<sup>1</sup>,  
Eduardo A. da Silva<sup>2</sup>, Roberto K. Zito<sup>3</sup>,  
José E. Pereira<sup>1</sup> e Aureo F. Lantmann<sup>1</sup>

Em função do impacto dos danos causados pelo nematóide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines*, à cultura da soja, foram conduzidos vários estudos, a partir de 1994 (em subprojeto anterior e durante a condução deste), com o objetivo de buscar informações que viabilizassem a convivência com essa praga, sem perdas de rendimento pela soja. Em 2000/01 foram continuados os estudos com aspectos relacionados à dinâmica populacional do nematóide por efeito de

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> SEAB-PR

<sup>3</sup> Epamig

dois níveis de pH e saturação por bases do solo, em Nova Ponte, MG, e de sobrevivência no solo na ausência de plantas hospedeiras, em Tarumã, SP. Foi, também, iniciado um experimento para avaliar o efeito da rotação milho-soja, em São Miguel das Missões, RS. Os trabalhos foram realizados em áreas de lavouras infestadas cedidas por produtores. Apesar do alto potencial de dano do NCS à soja, os resultados experimentais obtidos pela Embrapa Soja, nos últimos seis anos, em diversos pontos do país, neste subprojeto e em outro já encerrado (04.O.94.325-07), permitem garantir a possibilidade de convivência com essa praga, pelo manejo da cultura e do solo, mantendo a produção em nível econômico.

### 1.2.1. Dinâmica do NCS, em solo com dois níveis de saturação por bases

Esse estudo vem sendo conduzido com a finalidade de se verificar os efeitos da calagem excessiva e da aplicação de micronutrientes sobre a população do NCS, na rotação milho-soja. O experimento foi conduzido na Faz. Santa Luzia, em Nova Ponte (MG), no segundo semestre/1998, com os seguintes tratamentos:

- Calagem (dois níveis): C1 = sem aplicação de calcário (saturação por bases, média, de 39,27%); C2 = com aplicação de 4 t/ha de calcário com PRNT = 100%);

- Adubação com micronutrientes (dois níveis): M1 = sem aplicação; M2 = com aplicação, no solo, dos seguintes micronutrientes: Cu (1,67kg/ha), Zn (6,4kg/ha), B (0,8kg/ha), Mn (3,3kg/ha),

Co (0,08kg/ha) e Mb (0,3kg/ha);

- Rotação de culturas (de verão): R1 = monocultura de soja suscetível ao NCS; R2 = rotação milho-soja suscetível, iniciando pelo milho; R3 = rotação milho-soja suscetível, iniciando pela soja; R4 = rotação milho-milho-soja suscetível; R5 = monocultura de soja resistente ao NCS. O delineamento experimental foi blocos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos foram arrançados em parcelas subdivididas, sendo que nas parcelas, foi avaliado o efeito do calcário, e nas subparcelas, o efeito dos fatores micronutrientes e rotação de cultura. As parcelas têm 15m x 8m e área útil de 8m<sup>2</sup>.

Mensalmente, amostras de solo foram coletadas nas parcelas dos tratamentos C1M1R1, C1M1R2, C1M1R5, C1M2R1, C1M2R2, C1M2R5, C2M1R1, C2M1R2, C2M1R5, C2M2R1, C2M2R2 e C2M2R5 e trazidas para o Laboratório de Nematologia da Embrapa Soja, onde é determinado o número de juvenis de segundo estágio ( $j_2$ ), de machos, de cistos e de ovos do NCS.

Em 2000/01, como nos demais anos, não se observou efeito de micronutrientes. Observou-se que, em condições de pH e saturação por bases elevados, a taxa de degradação do nematóide foi reduzida, e sua população, avaliada através de ovos ou de cistos, manteve-se mais elevada, como já havia sido constatado nos experimentos encerrados conduzidos em Tarumã, SP e em Chapadão do Sul, MS. Observou-se, também, que a redução da população do NCS por efeito da cultivar resistente equivaleu-se à rotação com dois anos de milho (Tabela 1.1.).

**Tabela 1.1.** Número de ovos de *H. glycines*, na semeadura e na colheita, e rendimento de grãos, por efeito de dois níveis de pH e de saturação por bases do solo, e de quatro tratamentos de rotação de culturas, na safra 2000/2001, em Nova Ponte, MG. Embrapa Soja/Epamig. 2002.

Calagem	pH (CaCl) (semeadura)	V%* (semeadura)	Ovos (semeadura)	Ovos (colheita)	Rend.* (kg/ha)
<b>2000/2001</b>					
<u>SojaS-sojaS-sojaS-sojaS</u>					
Sem	5,3 b	56 b	320 a	1001 a	1836 a
Com	6,3 a	68 a	768 a	2227 a	1228 b
<u>Milho-sojaS-milho-sojaS</u>					
Sem	5,3 b	54 b	130 b	3580 a	1965 a
Com	6,3 a	68 a	657 a	3006 a	1205 b
<u>SojaS-milho-sojaS-milho</u>					
Sem	5,5 b	57 b	210 a	50 a	6386 a
Com	6,3 a	69 a	877 a	188 a	6211 a
<u>Milho-milho-sojaS-sojaS</u>					
Sem	5,5 b	55 b	152 b	32 a	6007 a
Com	6,3 a	70 a	2063 a	328 a	5883 a
<u>SojaR-sojaR-sojaR-sojaR</u>					
Sem	5,3 b	53 b	80 a	30 a	3102 a
Com	6,2 a	66 a	232 a	154 a	3197 a

\*Médias seguidas pela mesma letra, na linha, dentro de cada rotação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p=0,05$ ).

\*\* O nome em negrito refere-se à cultura cujos dados são apresentados imediatamente abaixo; as letras S e R a frente da palavra soja identifica suscetibilidade e resistência ao NCS.

### 1.2.2. Sobrevivência de *Heterodera glycines* no solo na ausência de plantas hospedeiras

O estudo da sobrevivência de *H. glycines*, vem sendo conduzido em Tarumã-SP, em área infestada, onde a soja fora substituída por cana-de-açúcar em 1995. Após seis anos (março/1995 a março/2001) da colheita da última soja

cultivada no local, foram, ainda, encontradas seis fêmeas do nematóide em raízes de soja suscetível (Cv. Embrapa 20) cultivada em solo de três das 20 amostras compostas coletadas na área. Os ovos extraídos dessas fêmeas (320 ovos) foram inoculados em dois vasos contendo, em cada um, uma planta de soja (em estágio VC) daquela cultivar

que, aos 30 dias da inoculação, teve seu sistema radicular analisado e não se encontrou nenhuma fêmea. Suspeita-se que os ovos não tenham sido fecundados, em função da baixa população no solo. Coletas de solo e avaliações foram realizadas novamente em julho e novembro de 2002 e não se recuperou o nematóide. Esses dados permitem afirmar que, para as condições em que foi executado o experimento, o NCS sobreviveu no solo por seis anos (Tabela 1.2).

### 1.2.3. Avaliação do efeito da rotação da soja com um e dois anos de milho sobre a população do NCS, no Rio Grande do Sul.

Em São Miguel das Missões, RS, foi conduzido, em 2000/01, o primeiro ano do estudo sobre o efeito de rotações envolvendo milho e soja, com um, dois e três anos de milho. Embora já haja resultados mostrando o efeito desse tipo de rotação, julgou-se importante avaliar

**Tabela 1.2.** Número de fêmeas de *H. glycines* em raízes de uma planta de soja, cultivada em solo infestado, em vasos, em amostras coletadas de novembro/1998 a novembro/2001, em Tarumã-SP. Embrapa Soja.

Parcela de Campo	Data de Amostragem de Solo no Campo													
	NOV 1998	DEZ <sup>1a2</sup> 1998	JAN 1999	SET <sup>1a2</sup> 1999	NOV <sup>1a2</sup> 1999	JAN 2000	ABR <sup>1a2</sup> 2000	JUN 2000	AGO <sup>1a2</sup> 2000	OUT <sup>1a2</sup> 2000	JAN <sup>1a2</sup> 2001	MAR 2001	JUL <sup>1a2</sup> 2001	NOV <sup>1a2</sup> 2001
1	0	0 0	0	0 0	0 0	1	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
2	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
3	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
4	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
5	0	0 0	0	0 0	0 0	7	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
6	0	0 0	0	1 1	0 0	0	0 0	1	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
7	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
8	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	1 *	0 0	0 0
9	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
10	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
11	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
12	0	0 0	0	0 0	0 0	1	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
13	0	0 0	0	0 0	1 0	1	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
14	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
15	0	0 0	0	0 0	0 1	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
16	0	1 0	0	0 0	0 1	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	2 *	0 0	0 0
17	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
18	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	0	0 0	0 0
19	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 1 *	0 0	0 0	0	0 0	0 0
20	0	0 0	0	0 0	0 0	0	0 0	0	0 0	0 0	0 0	3 *	0 0	0 0

<sup>1,2</sup> Amostragens em que foi cultivada soja duas vezes em sequência no mesmo solo (mesmo vaso).

\* Foram extraídos ovos das fêmeas encontradas que, inoculados numa em plantas da cv. Embrapa 20, não reproduziram fêmeas.

esse efeito nessa região por ser mais fria e, portando, suscitando haver uma menor taxa de degradação do NCS. Observou-se que houve uma alta taxa de degradação de cistos e ovos, entre maio e novembro, e uma taxa apenas satisfatória durante o verão, esta última por efeito da substituição da soja por milho (Tabela 1.3).

#### 2.4. Dinâmica de *Heterodera glycines*, em semeadura direta e convencional, em Primavera do Leste, MT

Para avaliar o efeito do sistema de semeadura e de rotações de culturas

sobre o comportamento do NCS, um experimento foi conduzido em Primavera do Leste, MT, em parceria com a Fundação MT, de 1995 a 1999. Nos três primeiros anos (1995/96 a 1998/99), foram estudados o efeito dos sistemas (monocultivo de soja, rotação soja-milho e rotação pastagem-soja) e sucessões de culturas com a soja (com e sem milheto no inverno) e da semeadura direta (SD) e convencional (SC). No final de três anos, observou-se que houve efeito apenas da rotação de culturas (milho no verão e pastagem), reduzindo a população de cistos. A partir da safra 1998/99, mante-

**Tabela 1.3.** População de cistos de *Heterodera glycines* no solo em função da data de amostragem e das culturas de milho e de soja, em São Miguel das Missões, safra 2000/01. Embrapa Soja/ Embrapa Trigo/COTRISA.

Trat. <sup>1</sup>	Maio/2000		Novembro/2000		Abril/2001		Rend. Kg/ha
	CV <sup>2</sup>	Ovos <sup>3</sup>	CV <sup>2</sup>	Ovos <sup>3</sup>	CV <sup>2</sup>	Ovos <sup>3</sup>	
1. Sj-Sj-Sj-Sj	7,7 a	2060 a	1,7 a	480 a	4,2 ab	523 ab	2237 a*
2. Mi-Sj-Mi-Sj	6,2 a	1643 a	1,2 a	510 a	0,8 b	77 b	4292 A
3. Sj-Mi-Sj-Mi	5,8 a	2247 a	1,8 a	753 a	6,5 a	710 a	2392 a
4. Mi-Mi-Sj-Mi	10,3 a	1743 a	2,2 a	593 a	2,2 ab	243 ab	3809 A
5. Sj-Mi-Mi-Sj	9,2 a	2327 a	0,8 a	387 a	3,8 ab	410 ab	2346 a
6. Mi-Mi-Mi-Sj	7,8 a	1757 a	0,7 a	327 a	1,2 b	280 ab	4111 A
Média	7,8	1963	1,4	508	3,2	374	
Ovos/cisto		252		363		117	

<sup>1</sup> Mi = milho; Sj = soja. Em vermelho, as espécies cultivadas em 2000/01, a que se referem os dados.

<sup>2</sup> CV: cistos aparentemente viáveis, em 100 cm<sup>3</sup> de solo.

<sup>3</sup> Ovos extraídos da massa total de cistos (viáveis e não viáveis), em 100 cm<sup>3</sup> de solo.

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey (P > 0,05). Para rendimento, letras minúsculas para soja e maiúsculas para milho.

ve-se o experimento do mesmo tamanho, mas foram eliminados os tratamentos envolvendo rotação e sucessão de culturas, cultivando soja suscetível em todas as parcelas e avaliando-se apenas o efeito dos sistemas de semeadura, passando, assim, a contar com apenas dois tratamentos e com 25 repetições. Foram avaliados o número de ovos e de cistos do NCS, em amostras de solo (com 15 subamostras cada) coletadas por ocasião da semeadura e da colheita da soja, e o rendimento da soja.

O número ovos de *H. glycines* aumentou durante o cultivo da soja, novembro a março, nos dois sistemas. Houve grande variabilidade nos dados de população e rendimento nos dois sistemas, não permitindo concluir se o sistema de semeadura interfere na dinâmica populacional do nematóide.



### 1.3. Levantamento, Identificação e Controle de Nematóides Formadores de Galhas em Soja (04.0.98.333-03)

João Flávio Veloso Silva<sup>1</sup>, Antônio Garcia<sup>1</sup> e José Erivaldo Pereira<sup>1</sup>

Os nematóides formadores de galha, principalmente as espécies *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*, representam sério problema para a produção de soja no Brasil, principalmente no norte do Rio Grande do Sul, no sudoeste e norte do

Paraná, no sul e norte de São Paulo e no sul do Triângulo Mineiro. Na região Central do Brasil, vários focos têm sido detectados e o problema é crescente. Este subprojeto foi iniciado em 1998 com o objetivo de manter atualizados os dados sobre a ocorrência de espécies de nematóide de galha em soja no Brasil, avaliar sua importância e desenvolver metodologias de controle. Os resultados obtidos em 2001 são, na seqüência, descritos.

#### 1.3.1. Levantamento de ocorrência

A ocorrência de espécies de *Meloidogyne* foi acompanhada no País através da análise de amostras de solo e raízes encaminhadas ao laboratório de nematologia da Embrapa Soja. O objetivo desta atividade foi identificar as espécies de nematóides desse gênero que ocorrem em lavouras de soja no Brasil, determinando sua distribuição geográfica, para direcionamento do Programa de melhoramento da Embrapa Soja. Em 2001, 41 amostras de solo e raízes foram analisadas especificamente para a diagnose de *Meloidogyne* sp. no laboratório de Nematologia da Embrapa Soja. Pode-se concluir que *M. javanica* é de ocorrência mais generalizada, o que também foi constatado nos anos anteriores, e que *M. incognita* predomina nas áreas do Paraná cultivadas anteriormente com café ou algodão.

#### 1.3.2. Avaliação da Resistência de Genótipos de Soja

Na safra 2000/2001, a resistência de 162 genótipos de soja a *M. javanica* foi avaliada em áreas infestadas de Londrina, PR, Santo Cristo, RS, e

<sup>1</sup> Embrapa Soja

Turvelândia, GO. Para *M. incognita* os experimentos foram instalados em Florínea, SP e Marechal Cândido Rondon, PR. Destacaram-se como resistentes a *M. javanica* BRAS95-30080, BR96-11552, BR95-1985, BRSGO 204, GOBR93-1483, BR96-25375, BR98-17840, BR97-20805, BR98-17336, BR98-17205, BR98-17840. Como resistentes a *M. incognita* destacaram-se BR93-11595, BR96-027029, BRS97-2920, BR98-24067, BR98-19250, BR98-17336, BRAS95-30080, BR96-11552, BR95-1985.

### 1.3.3. Avaliação da hospedabilidade de outras espécies vegetais cultivadas

O objetivo básico deste trabalho é oferecer ao produtor informações que subsidiarão a tomada de decisão na escolha de cultivares de espécies cultivadas para composição de sistemas agrícolas supressivos aos nematóides fitoparasitas. Em 2001, a resistência de genótipos de feijão (21), de caupi (*Vigna unguiculata*) (8), além de genótipos de soja (4), foram avaliados frente a *M. javanica*. Os ensaios foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação e de campo. Em casa-de-vegetação, os genótipos foram avaliados em tubetes plásticos (4,5 cm de diâmetro x 19 cm de comprimento). O substrato (3 partes de solo:1 de areia) foi esterelizado com brometo de metila. A inoculação dos genótipos foi feita com 3.000 ovos do nematóide por tubete, aos sete dias após o transplante das plântulas para os tubetes. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 14 repetições. A avaliação da reprodução do nematóide

foi feita aos 42 dias após a inoculação, contando o número de galhas e de ovos no sistema radicular das plantas de cada genótipo e determinando o Fator de Reprodução ( $FR = Pf/Pi$ , sendo Pf a população final de ovos do nematóide e Pi a população inicial). Os genótipos foram também semeados no mês de novembro/2001, em campo infestado com *M. javanica*, em delineamento de blocos ao acaso com cinco repetições, sendo a parcela experimental constituída de uma cova com seis plantas. A avaliação foi feita aos 90 dias após a semeadura, através da presença de galhas no sistema radicular, usando escala de notas variando de 0 (ausência de galhas) a 5 (alta incidência de galhas). Houve alta correlação quanto ao comportamento dos genótipos nos dois ensaios (casa-de-vegetação e campo). A grande maioria dos genótipos comportou-se como suscetível, enquanto entre os melhores genótipos de feijão destacaram-se como resistentes Aporé e POT 51.

◆◆◆◆◆



**CONTROLE INTEGRADO DE DOENÇAS DA SOJA****2****Nº do Projeto:** 04.1999.335**Líder:** Ademir Assis Henning**Nº de Subprojetos que compõem o projeto:**06

**Unidades/Instituições participantes:** Embrapa Soja (Londrina, PR), Embrapa Trigo, Embrapa Agropecuária Oeste (Dourados, MS), Embrapa Sementes Básicas (Ponta Grossa, PR), Embrapa Cerrados (Planaltina, DF), FAPCEN (Balsas, MA), Embrapa Arroz e Feijão (Goiânia, GO), Embrapa CPAF (Boa Vista, RR), EPAGRI (Chapecó, SC), COOPERVALE (Abelardo Luz, SC), DEDINI S.A. Agroindústria (Pirassununga, SP), Instituto Biológico (São Paulo, SP) e ESALQ/USP (Piracicaba, SP)

Apesar do grande esforço e dos recursos investidos na pesquisa e assistência técnica, as doenças constituem fatores limitantes ao aumento de rendimento e estabilidade da cultura da soja no Brasil. As perdas ocasionadas por doenças, na safra 2001/02, com produção estimada em torno de 41,5 milhões de toneladas (CONAB, fev/02), ao nível da lavoura, atingiram a cifra de 11,6 milhões de toneladas (equivalente a US\$2,2 bilhões, a US\$220,50/t). As pesquisas realizadas pela Embrapa Soja priorizaram o controle através do manejo integrado, com ênfase na resistência genética e no manejo da cultura, especialmente com a rotação de cultura e o tratamento de sementes.

Diversas cultivares de soja têm sido liberadas aos produtores com resistência às principais doenças: mancha "olho-de-rã", cancro da haste, oídio, mancha alva, crestamento bacteriano, nematóide de cisto e mosaico comum da soja. Um exemplo de medida que assegura a sanidade e o estabelecimento da cultura da soja é o fato de que 93% das sementes utilizadas no País são tratadas com fungicidas sistêmicos e de contato. Essa prática, além de reduzir as doses dos fungicidas, aumentou o espectro de ação contra os distintos patógenos existentes no solo e nas sementes, evitando significativas perdas com ressemeadura e queda de rendimento.

Com o cultivo intensivo e a expansão da soja para novas fronteiras, há o aparecimento de novas doenças e/ou raças de patógenos que podem comprometer o futuro da sojicultura nacional, como a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), que apareceu no Brasil, na safra 2000/01. Assim, o problema de doenças tem se tornado uma das maiores prioridades para a pesquisa.

Como objetivo geral, o projeto propõe-se a desenvolver conhecimentos e tecnologias que propiciem o controle integrado das doenças através do desenvolvimento de cultivares resistentes, manejo da cultura, controle químico e tratamento de sementes.

## 2.1. Caracterização, epidemiologia e controle de viroses de soja

Álvaro M. R. Almeida<sup>1</sup>, Elliot W. Kitajima<sup>2</sup>,  
Fernanda F. Piuga<sup>3</sup>, Thalita G. Oliveira<sup>3</sup>,  
Elizeu Binneck<sup>4</sup>, Luís C. Benato<sup>1</sup>, Mauro C. Pinto<sup>1</sup>  
e Nilson Valentin<sup>1</sup>

A variação da produtividade da soja, no Brasil, ocorre devido a diversos fatores, entre eles, as doenças. Atualmente, pelo menos treze viroses têm sido identificadas nesta cultura, no Brasil. O controle de viroses é normalmente obtido através de resistência genética. Entretanto, isso nem sempre é conseguido pois há contínuo aparecimento de novas estirpes e também de novas viroses.

Nos dois últimos anos, sintomas semelhantes àqueles causados por vírus foram vistos em plantas de soja no sudoeste de Goiás e Barreiras, na Bahia. Plantas apresentavam curvatura do broto, necrose da haste e morte.

O agente causal foi identificado como sendo um vírus, o qual foi transmitido por enxertia para plantas de soja cv. Mirador, Coodetec 206 e Embrapa 153. Amostras de folhas infectadas foram analisadas por microscopia eletrônica, onde se observou presença de partículas do vírus, típicas do gênero carlavirus (Fig. 2.1A e 2.1B). Testes de transmissão com pulgões foram negativos. Moscas brancas, criadas em feijão foram utilizadas nos testes de transmissão. Após

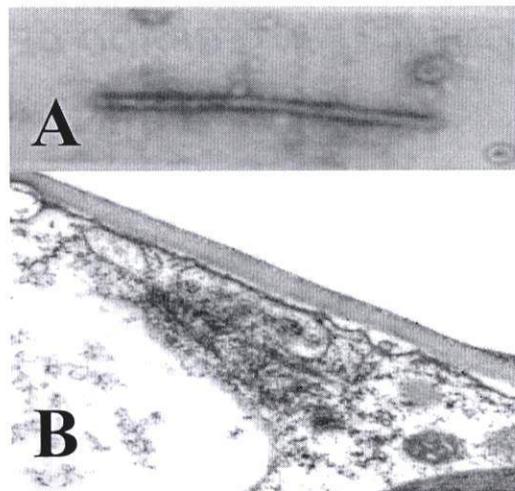


Fig. 2.1. Micrografia eletrônica mostrando partícula de carlavírus (A) e feixes de partículas falcadas (B), presentes em tecido de soja infectado com o vírus da necrose da haste.

período de aquisição de 24 h em plantas infectadas, as moscas foram transferidas para plantas de soja sadias da cv. Mirador, com resultados positivos. Não se constatou transmissão por sementes de soja, cv. Mirador.

O vírus possui estreito círculo de plantas hospedeiras, entre aquelas testadas nesse estudo (Tabela 2.1).

A purificação parcial do vírus permitiu a identificação da proteína capsial com 30 KDa (Fig. 2.2). A prova definitiva da identificação do vírus foi feita através da reação de transcrição reversa e reação em cadeia de polimerase, utilizando primers específicos para o gênero carlavirus (Fig. 2.3). Um fragmento de DNA com 120 pares de bases foi amplificado. Os resultados confirmaram que o vírus identificado era do gênero carlavirus. O

<sup>1</sup> Embrapa Soja;

<sup>2</sup> ESALQ, Piracicaba;

<sup>3</sup> Estagiária Embrapa Soja/UNOPAR;

<sup>4</sup> Bolsista Pós Doutorado CNPq

Tabela 2.1. Reação de espécies botânicas infectadas pelo vírus da necrose da haste da soja.

Família	Espécie	Reação*
Amaranthaceae	<i>Amaranthus sp.</i>	-
	<i>Gomphrena globosa L.</i>	-
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium amaranticolor Coste &amp; Reyn</i>	LLN
	<i>Chenopodium quinoa Willd</i>	-
	<i>Chenopodium murale</i>	-
Compositae	<i>Helianthus annuus annuus L. 'Agrobel 910'</i>	-
	<i>Emilia sonchifolia (L.) DC</i>	-
Leguminosae	<i>Glycine max L. Mer.</i>	
	c.v. Santa Rosa	-
	c.v. Davis	NS
	c.v. FT-10	Mo/NS
	c.v. Mirador	NS/Mo
	c.v. FT-10	Mo
	c.v. CD 206	Mo
	c.v. Embrapa 133	-
	c.v. Tucano	-
	c.v. UFV 19	NS
	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	
	c.v. Rosinha	-
	c.v. Carioca	-
	c.v. Jalo	ML
	c.v. Manteiga	ML
	c.v. Tibagi	-
	<i>Lupinus albus L.</i>	-
	<i>Crotalaria striata</i>	-
	<i>C. mucronata Desv.</i>	-
	<i>C. spectabilis Roth.</i>	-
	<i>Arachis hypogaeae L.</i>	-
	<i>Vigna unguiculata Walp c.v. Pitiúba</i>	-
	<i>Pisum sativum</i>	-
	<i>Senna occidentalis (L.) Link</i>	-
Solanaceae	<i>Lycopersicon esculentum Mill.</i>	-
	<i>Nicotiana tabacum L. 'Sansun NN'</i>	-
	<i>N. glutinosa L.</i>	-
	<i>N. benthamiana</i>	-
	<i>N. debneyi</i>	-
	<i>Datura stramonium</i>	-
Cucurbitaceae	<i>Cucurbita pepo L. 'Caserta'</i>	-
Compositae	<i>Bidens pilosa L</i>	-
Labiatae	<i>Ocimum basilicum</i>	-
Graminae	<i>Zea mays</i>	-
Pedaliaceae	<i>Sesamun indicum</i>	M

\*NS= necrose sistêmica; Mo= mosqueado; M=mosaico; ML= mosaico leve; LLN= lesão local necrótica; - = sem sintoma.

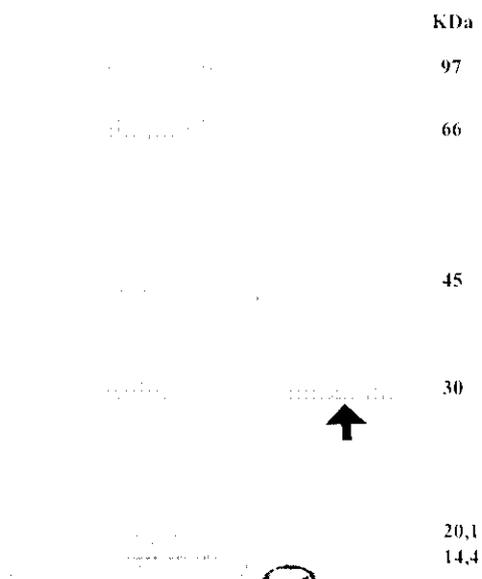


Fig. 2.2. Perfil eletroforético de proteína capsidial (seta) do vírus da necrose da haste da soja, em gel de poliacrilamida a 10%, com SDS.

fragmento amplificado foi clonado e sequenciado. O sequenciamento obtido apresentou 88,4% de identidade com o sequenciamento descrito para um vírus semelhante, descrito em soja, na África e Ásia e denominado *Cowpea mild mottle virus*. Nesses países o vírus transmitia-se por *Bemisia tabaci*.

Ao se constatar que a maioria das moscas brancas no Brasil pertence ao novo biotipo B, procurou-se avaliar a qual biotipo pertenciam as moscas brancas utilizadas neste trabalho. Através da reação em cadeia de polimerase, com primer específico, constatou-se que o biotipo utilizado era biotipo B.

Cultivares de soja, da Embrapa Soja, foram desafiadas com inoculação desse vírus, procurando-se determinar quais genótipos poderiam ser úteis aos produtores, naquela região. Vinte plantas de cada genótipo foram inoculadas mecâni-

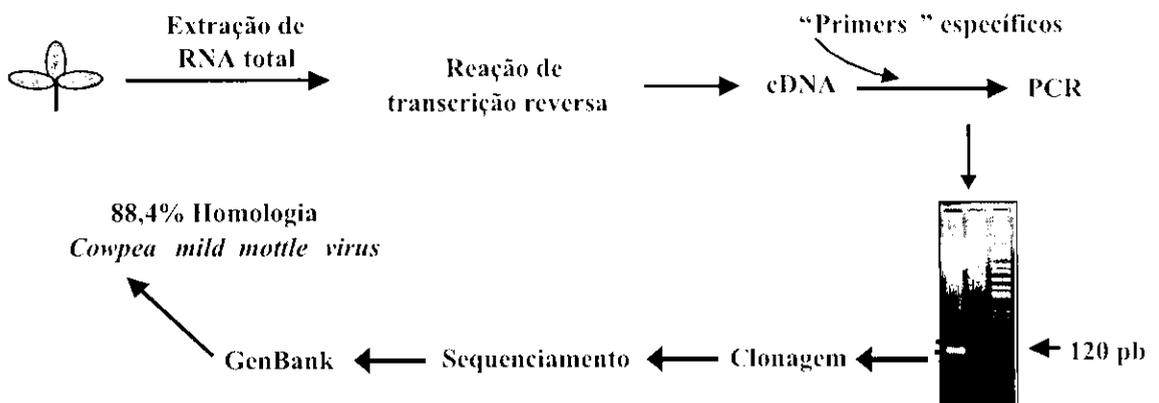


Fig. 2.3. Reação de transcrição reversa associada a reação em cadeia de polimerase utilizadas para comprovação da identidade de carlavírus. Amostra inicial de RNA obtido defolhas infectadas.

camente e as avaliações efetuadas 3 semanas após a segunda inoculação. Diversas cultivares foram resistentes à infecção e podem ser cultivadas nas regiões com o problema. Nada impede,

entretanto, que novos isolados apareçam e quebrem a resistência dessas cultivares. As reações estão disponíveis na tabela 2.2.

**Tabela 2.2.** Reação de cultivares de soja infectadas mecânicamente com o vírus da necrose da haste.

Cultivar	Reação	Cultivar	Reação	Cultivar	Reação
BR 4	S	BRS GO 204 (GOIÂNIA)	S	BRS MT CRIXÁS	R
BR 6 (NOVA BRAGG)	D	BRS GO BELA VISTA	S	BRS MT PINTADO	R
BR 9 (SAVANA)	D	BRS GO CATALÃO	R	BRS MT UIRAPURU	R
BR 16	R	BRS GO GOIATUBA	D	BRS NOVA SAVANA	S
BR 28 (SERIDÓ)	D	BRS GO JATAÍ	D	BRS PÉTALA	S
BR 30	D	BRS GO SANTA CRUZ	D	BRS PIRARARA	S
BR 36	D	BRS GRALHA	S	BRS SAMBAÍBA	R
BR 37	D	BRS JUÇARA	S	BRS SELETA	S
BR EMGOPA 314 (GARÇA BRANCA)	D	BRS MA PARNAIBA	D	BRS TRACAJÁ	D
BR IAC 21	R	BRS MA PATI	D	EMBRAPA 1 (IAS 05 RC)	R
BRS 65	R	BRS MG 68	S	EMBRAPA 4 (BR 4 RC)	S
BRS 132	S	BRS MG CONFIANÇA	D	EMBRAPA 9 (BAYS)	D
BRS 133	R	BRS MG GARANTIA	R	EMBRAPA 20 (DOKO-RC)	S
BRS 134	R	BRS MG LIDERANÇA	D	EMBRAPA 48	D
BRS 135	R	BRS MG NOVA FRONTEIRA	S	EMBRAPA 58	S
BRS 136	R	BRS MG RENASCENÇA	S	EMBRAPA 59	R
BRS 155	S	BRS MG SEGURANÇA	S	EMBRAPA 60	S
BRS 156	S	BRS MG VIRTUOSA	S	EMBRAPA 61	R
BRS 157	D	BRS MILENA	R	EMBRAPA 63 (MIRADOR)	S
BRS 181	R	BRS MS ACARÁ	S	EMBRAPA 64 (PONTA PORÃ)	D
BRS 206	D	BRS MS APAIARÍ	S	MG BR 46 (CONQUISTA)	R
BRS 217 FLORA	R	BRS MS BACURÍ	R	MG BR 48 (GARIMPO-RCH)	R
BRS 218 NINA	S	BRS MS CARANDA	D	MS BR 19 (PEQUÍ)	S
BRS 219 BOA VISTA	R	BRS MS LAMBARI	D	MS BR 34 (EMPAER 10)	D
BRS ANHUMAS	S	BRS MS MANDÍ	R	MT BR 45 (PAIAGUÁS)	D
BRS APIAKÁS	S	BRS MS PIRACANJUBA (C.GDE)	R	MT BR 47 (CANÁRIO)	D
BRS AURORA	S	BRS MS PIRAPUTANGA	S	MT BR 50 (PARECÍS)	D
BRS BABAÇU	D	BRS MS SAUÁ	R	MT BR 52 (CURIÓ)	D
BRS BORORÓ	D	BRS MS TAQUARÍ	D	MT BR 53 (TUCANO)	D
BRS CELESTE	D	BRS MS TUIUIÚ	D		



## 2.2. Controle integrado de doenças da soja no norte do cerrado brasileiro (04.1999.335-05)

Maurício C. Meyer<sup>1</sup>; Nilton L. de Souza<sup>2</sup>;  
José T. Yorinori<sup>1</sup>; Roseli C. Fenille<sup>2</sup>;  
Eiko E. Kuramae<sup>2</sup>; Leones A. Almeida<sup>1</sup> &  
Carlos A.A. Arias<sup>1</sup>

### UNIDADE COLABORADORA: UNESP / FCA de Botucatu, SP

Considerando a importância da mela da soja causada por *Rhizoctonia solani* e a ausência de informações que dêem subsídio para as recomendações de controle, estudos mais aprofundados a esse respeito foram priorizados.

Foram objetivos deste subprojeto caracterizar detalhadamente o agente causal da mela da soja; definir metodologia de avaliação de genótipos para resistência à mela; desenvolver metodologia de avaliação de germoplasma e avaliar a variabilidade genética para resistência à doença; coletar, identificar e preservar isolados do patógeno e avaliar a eficiência do controle químico da doença.

Os trabalhos foram conduzidos no período de 1999 a 2001, em condições de laboratório e casa de vegetação da UNESP / FCA de Botucatu, SP.

#### 2.2.1. Obtenção e caracterização de isolados de *Rhizoctonia solani* causadores da mela da soja

##### 2.2.1.1. Obtenção e preservação de isolados

Os isolados de *Rhizoctonia solani* causadores da mela em soja foram

obtidos de tecidos vegetais infectadas, oriundas de regiões produtoras do Maranhão, Mato Grosso, Tocantins e Roraima, utilizando-se o meio seletivo KHMP. Foram obtidos 44 isolados, que foram adicionados aos 64 previamente mantidos em coleção na UNESP de Botucatu, totalizando 108 isolados. A preservação dos isolados foi feita em tubos com BDA e óleo mineral a temperatura ambiente, assim como em grãos de arroz colonizados e mantidos a -20C, no laboratório de Fitopatologia da FCA/UNESP de Botucatu, SP.

#### 2.2.2. Caracterização citológica

##### 2.2.2.1. Definição de número médio de núcleos por célula

Foram contados os núcleos de 20 células jovens das hifas de cada isolado de *R. solani* e dos isolados padrões dos grupos de anastomose AG1 (IA, IB e IC), AG2-3 e AG4 (HGI, HGII e HGIII), utilizando-se a técnica da lâmina de vidro para microscopia contendo uma camada fina de ágar-água. A média de núcleos por célula de 100 isolados avaliados foi de 9,5, assemelhando-se ao AG1.

##### 2.2.2.2. Diâmetro médio de hifas

Com auxílio de um micrômetro ocular adaptado ao microscópio (amplificação de 600X) foram medidas 50 hifas por isolado, cujo diâmetro médio variou de 5,9  $\mu\text{m}$  (SJ 145) a 10,0  $\mu\text{m}$  (SJ 83). As médias dos isolados padrões foram de 8,5  $\mu\text{m}$  para o AG1-IA, 8,0  $\mu\text{m}$  para o AG1-IC, 7,4  $\mu\text{m}$  para o AG1-IB, 7,2  $\mu\text{m}$  para o AG4-HGII, 6,5  $\mu\text{m}$  para o AG4-HGI, 5,9  $\mu\text{m}$  para o AG4-HGIII e 4,6  $\mu\text{m}$  para o AG2-3.

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> UNESP / FCA, Botucatu, SP

### 2.2.3. Caracterização quanto ao grupamento de anastomose (AG)

O pareamento dos isolados em teste com isolados padrão do AG1-IA, AG1-IB e AG1-IC foi feito através da técnica da lâmina de vidro para microscopia. A frequência de fusão de hifas foi calculada pela fórmula  $FF = A(100)/C$ , onde: FF = frequência de fusão entre hifas (%); A = nº de anastomoses observadas em 15 campos de observação ao microscópio; C = nº de pontos de contato entre hifas, havendo ou não anastomose, em 15 campos de observação ao microscópio.

Com exceção dos isolados SJ 89, 92, 94, 113, 139, 142 e 143, todos os demais apresentaram reação positiva de anastomose com os três subgrupos do AG1, não sendo possível sua classificação apenas com base na capacidade de fusão de hifas. Considerando os níveis mais elevados de FF, pode-se inferir que os isolados provenientes do Maranhão, Mato Grosso e Tocantins assemelham-se ao AG1-IA, não sendo possível diferenças entre os isolados de Roraima. Os isolados SJ 89, 92 e 94 não se caracterizaram como AG1 pela ausência de reações de anastomose. Foram observadas reações positivas de anastomose entre os isolados padrões, com FF moderada entre AG1-IA X AG1-IC e baixa para o AG1-IA X AG1-IB e AG1-IB X AG1-IC.

### 2.2.4. Caracterização cultural

#### 2.2.4.1. Taxa de crescimento micelial em função da temperatura

Esta caracterização foi feita através da medição do crescimento radial de micélio dos isolados de *R. solani*, em

placas de Petri com meio BDA, até que o micélio atingisse as bordas da placa, incubadas às temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35C, no escuro. Foram avaliados 40 isolados brasileiros, selecionados de acordo com a procedência e características culturais, e os padrões dos grupos de anastomose AG1 (IA, IB e IC), AG2-3 e AG4 (HGI, HGII e HGIII). As maiores taxas de crescimento foram observadas nas temperaturas de 25C e 30C.

### 2.2.5. Caracterização molecular dos isolados

Os isolados de *R. solani* foram comparados com isolados padrões dos AGs 1 (IA, IB e IC), 2 (1, 2 IIIB, 2 IV e 3) e 4 (HGI, HGII e HGIII) através de marcadores moleculares RAPD e pela homologia de seqüência de nucleotídeos das regiões ITS1, ITS2 e do gene 5,8s do rDNA. A caracterização por RAPD agrupou os isolados do Mato Grosso, Maranhão e Tocantins com o AG1-IA, apresentando níveis de similaridade acima de 63%, não havendo distinção para os isolados provenientes de Roraima. O sequenciamento das regiões ITS e 5,8s confirmou a homologia destes isolados com o AG1-IA e agrupou os isolados provenientes de Roraima como AG1-IB. Três isolados provenientes de Mato Grosso, Maranhão e Roraima, respectivamente, não se enquadraram a nenhum grupo de anastomose avaliado.

Com estes resultados conclui-se que a mela da soja no Brasil é causada por *R. solani* AG1-IA e AG1-IB, prevalecendo o AG1-IA nas regiões produtoras de Mato Grosso, Maranhão e Tocantins, e o AG1-IB em Roraima. Ficou evidente também

que a distinção dos grupos intraespecíficos do AG1 somente é possível após análise da homologia da seqüência de nucleotídeos das regiões ITS1, ITS2 e do gene 5,8s do rDNA do patógeno. Estas informações são de grande importância para o sucesso de futuros trabalhos de melhoramento genético em busca de resistência à doença.

### 2.2.3. Patogenicidade, formulação de micélio e metodologia de inoculação de isolados de *Rhizoctonia solani* AG1-IA

#### 2.2.3.1. Avaliação da patogenicidade e virulência de isolados

Os testes para avaliação da patogenicidade e da virulência de 100 isolados e dos padrões AG1(IA, IB e IC), AG2-3 e AG4 (HGI, HGII e HGIII) foram realizados em plantas inteiras e em trifólios destacados de soja 'BRS Seridó RCH', em delineamento de blocos casualizados com quatro repetições. A severidade da doença foi avaliada pela escala de notas de 1 a 5, onde 1 = sem sintomas, 2 = até 25% de área foliar infectada (a.f.i.), 3 = de 26% a 50% de a.f.i., 4 = de 51% a 75% de a.f.i. e 5 = acima de 75% de a.f.i.

O nível médio de severidade da doença causado pelos isolados foi 3,01 nas avaliações em plantas inteiras e 3,37 em trifólios destacados. Dentre os padrões, o AG1-IA foi o mais severo. Não foi observada patogenicidade dos isolados SJ 89, SJ 137 e do padrão do AG4-HGI. Os demais isolados apresentaram-se patogênicos, inclusive os AGs 4 HGII e HGIII, característicos por infectarem colos e raízes. Dos 100 isolados avaliados, 50 apresentaram graus de severidade acima de 3 (>26% de área foliar infectada) nas

avaliações em plantas inteiras e 64 em trifólios destacados.

#### 2.2.3.2. Formulação de micélio de *R. solani* AG1-IA

Foram realizadas tentativas de formulação de micélio de *R. solani* AG1-IA com o objetivo de inoculação em plantas para avaliação de resistência genética à doença. A primeira tentativa foi feita a partir de grãos de arroz colonizados com o fungo e finamente triturados. A segunda tentativa se constituiu na mistura de micélio (cultivado em meio líquido) com talco (CaCO<sub>3</sub>). Todos os formulados obtidos foram armazenados a temperatura ambiente, em geladeira (4°C) e "freezer" (-20°C).

Elevada manutenção da viabilidade das estruturas fúngicas foram obtidas apenas com a formulação obtida a partir de grãos de arroz colonizados, com até 30 dias de armazenamento. Não houve manutenção satisfatória da viabilidade das estruturas fúngicas na formulação em talco.

#### 2.2.3.3. Avaliação de metodologias de inoculação

Foram avaliadas quatro metodologias de inoculação em plantas e em trifólios destacados das cultivares de soja 'Embrapa 63 (Mirador)' e 'BRS Seridó RCH' em estádio V6 de desenvolvimento vegetativo.

As metodologias avaliadas foram compostas por: a) deposição de disco de micélio; b) pulverização de suspensão de micélio nas diluições de 1:3, 1:6 e 1:30 (p/v); c) pulverização de um formulado de micélio em pó, obtido de grãos de arroz

colonizados, ressuspendido em água destilada a 5%; d) pulverização de um formulado de micélio em talco ( $\text{CaCO}_3$ ), na concentração de 25%, ressuspendido em água destilada a 5%.

Inoculações por deposição de disco de micélio e pulverização de suspensão de micélio apresentaram os maiores níveis de severidade, para plantas inteiras nas cultivares 'BRS Seridó RCH' e 'Embrapa 63 (Mirador)', e somente em 'BRS Seridó RCH' para trifólios destacados. As formulações de *R. solani* causaram baixos índices de severidade da doença, não diferindo da testemunha na maioria dos casos. Foi observado o desenvolvimento de fungos saprófitas sobre fragmentos de arroz, nos tratamentos com pulverização do formulado de *R. solani* em grãos colonizados.

#### 2.2.4. Avaliação de genótipos de soja para resistência à mela

Foram avaliados 337 genótipos de soja quanto à reação de resistência à mela, causada por *Rhizoctonia solani* AG1-IA e AG1-IB, utilizando-se as metodologias de plantas inteiras (PI) e trifólios destacados (TD). A severidade da doença foi avaliada aos cinco e 10 dias após a inoculação, através da escala de notas de 0 a 5, onde: 0 = sem sintomas, 1 = <5% de área foliar infectada (a.f.i.), 2 = 6% a 10% de a.f.i., 3 = 11% a 30% de a.f.i., 4 = 31% a 50% de a.f.i., 5 = > 50% de a.f.i.

A classificação das respostas de resistência foi feita em função da escala de notas de severidade da doença, adotando-se o seguinte critério: resistente (R) = 0 a 1,9; moderadamente resis-

tente (MR) = 2,0 e 2,9; moderadamente suscetível (MS) = 3,0 e 3,9; suscetível (S) = 4,0 a 4,9 e altamente suscetível (AS) = 5.

Foi empregado o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey para médias individuais e médias de mínimos quadrados ("LSMeans") para análise conjunta dos ensaios, sendo as mesmas ajustadas com base na testemunha comum 'BRS Seridó RCH'.

As avaliações em plantas inteiras e trifólios destacados não apresentaram correlação estatística positiva entre si, portanto não foram considerados as TDs na análise das reações dos genótipos. Na grande maioria dos casos, houve progressão do grau de severidade entre as avaliações em PI aos cinco (PI 5) e 10 (PI 10) dias após a inoculação, sendo consideradas as médias aos 10 dias para avaliação da resistência.

Nenhum genótipo apresentou-se resistente. Destacaram-se 'IAC-8' com médias de severidade de 1,38 para PI 5 e 2,13 para PI 10, seguidas de 'FT-16' e 'Leflore', com 1,63 e 1,88 para PI 5 e 2,63 em ambas para PI 10, respectivamente. Além destas, figuraram na classe de moderadamente resistentes também os cultivares 'UFV-9 (Sucupira)', 'BR-SMA Boa Vista', 'BR-SGO Jataí', 'BR-36', 'CEP-20 (Guajuvira)', 'IAC-16', 'Padre', 'MSoy 7101', 'MSoy 7201' e 'MSoy 8720'. Foram observados 81 genótipos com reação moderadamente suscetível, 231 suscetível e 12 altamente suscetível.

### 2.2.5. Efeito de fungicidas e indutores de resistência sobre *Rhizoctonia solani* AG1-IA e sobre a mela da soja

Foram avaliados os efeitos de 18 fungicidas e dos indutores de resistência Ácido Salicílico (AS) e Acibenzolar-S-Metil (ASM) sobre o patógeno e a doença. Os fungicidas e indutores de resistência foram avaliados pelo efeito *in vitro* de inibição de crescimento micelial e estimativa das concentrações letais para inibição de 50% (CL50) e 90% (CL90) do crescimento micelial, e pelo efeito *in vivo* de redução da severidade da doença em plantas de soja sob condições de casa de vegetação, através de aplicações preventivas e curativas de fungicidas e preventivas de indutores de resistência.

Todos os fungicidas causaram inibição do crescimento micelial *in vitro*. Também o ASM causou inibição do desenvolvimento micelial nas concentrações de 10mg/L e 100mg/L de meio, provavelmente devido a algum componente de sua formulação comercial. Maiores reduções na severidade da doença foram obtidas com aplicações preventivas de fungicidas, destacando-se as estrobirulinas como mais eficientes nas duas formas de aplicação. Foi observado redução na severidade da doença pelo AS (2,5mM) aplicado aos 20 dias antes da inoculação e pelo ASM (12,5mg i.a./L) aos 10 dias antes da inoculação.



### 2.3. Patologia e Tratamento de Sementes de Soja (04.1999.335-06)

Ademir A. Henning<sup>1</sup>, Wilmar Cório da Luz<sup>2</sup>  
José de B. França Neto<sup>1</sup>,  
Francisco C. Krzyzanowski<sup>1</sup>, Nilton P. da Costa<sup>1</sup>,  
Augusto C. P. Goulart<sup>3</sup>,  
Reinaldo Chitolina Filho<sup>4</sup> e Rodrigo Bays<sup>5</sup>

#### 2.3.1. Experimentos em Rede: "Avaliação de produtos biológicos para o tratamento de sementes de soja".

O objetivo desse subprojeto foi avaliar a eficiência de produtos biológicos comparados com um fungicida padrão para o tratamento de sementes de soja, sob diversas condições edafo-climáticas na safra 2001/2002.

Os efeitos dos produtos biológicos e do fungicida recomendado para o tratamento de sementes sobre o estabelecimento da população, altura de plantas e o rendimento foram avaliados em três experimentos conduzidos em Londrina (PR), Dourados (MS) e Pirassununga (SP), em parceria com diversas instituições.

Sementes da cultivar Embrapa 133 foram tratadas em sacos plásticos no laboratório, com os seguintes produtos: 1) *Bacillus megaterium* (4,33 %) 300 g (P); 2) *Bacillus megaterium* 13 g em 800 ml de água (PM); 3) *Pantoea agglomerans*, 1494 (4,33 %) 300 g (P); 4)

<sup>1</sup> Embrapa Soja

<sup>2</sup> Embrapa Trigo (Passo Fundo, RS)

<sup>3</sup> Embrapa Agropecuária Oeste (Dourados, MT)

<sup>4</sup> DEDINI S.A. (Pirassununga, SP)

<sup>5</sup> Bolsista da Embrapa Soja/UDEL

*Pantoea agglomerans*, 1494 13 g em 800 ml de água (PM); 5) *Pseudomonas putida*, (4,33 %) 300 g (P); 6) *Pseudomonas putida*, 13 g em 800 ml de água (PM); 7) *Paenibacillus macerans*, (Emb. 144) (4,33 %) 300 g (P); 8) *Paenibacillus macerans*, (Emb. 144) em 800 ml de água (PM); 9) *Pseudomonas fluorescens*, (Embr. 42) (4,33 %) 300 g (P); 10) *Pseudomonas fluorescens*, (Embr. 42) 13 g em 800 ml de água (PM) e 11) carbendazin + thiram (Derosal Plus 200ml/100 kg).

Após os tratamentos, as sementes foram instalados experimentos de campo na Embrapa Soja (Londrina, PR), Embrapa Agropecuária Oeste (Dourados, MS) e Dedini Indústria e Comércio (Pirassununga, SP). As parcelas de 5 m de comprimento possuíam quatro linhas e a densidade de semeadura foi de 20 sementes por metro linear. As avaliações de emergência e população final foram realizadas nas quatro linhas da parcela. A altura de plantas foi estimada em dez plantas escolhidas ao acaso dentro da área útil da parcela (4 m<sup>2</sup>,) utilizada também para a avaliação do rendimento. O delineamento experimental empregado foi o de blocos casualizados com quatro repetições e a análise da variância foi calculada pelo Sistema SAS sendo as médias separadas pelo teste de Tukey ou Duncan.

Em Londrina (Tabela 2.3), a emergência variou entre 79% no tratamento com *Pseudomonas fluorescens* (P) e 95% no tratamento com o fungicida padrão. Nos demais parâmetros avaliados, não houve diferença estatística entre os tratamentos sendo que o rendimento foi bastante

prejudicado devido à época da semeadura (meados de dezembro). Aparentemente as boas condições de temperatura e umidade do solo favoreceram a germinação e emergência da soja o que mascarou o possível efeito "protetor" dos tratamentos biológicos.

O experimento de Pirassununga foi semeado em 14/12/2001 e a leitura da emergência foi feita em 17/01/2002. Não foram observadas grandes diferenças entre os tratamentos com relação à emergência que oscilou entre 79% no tratamento com *Bacillus megaterium* (P) e 89% no tratamento com *Pseudomonas fluorescens* (P). Possivelmente a ocorrência de boas condições de umidade e temperatura do solo, a exemplo do que ocorreu no experimento de Londrina, resultou em rápidas germinação e emergência da soja, neutralizando o efeito do tratamento da semente (Tabela 2.4).

Em Dourados (MS), observou-se uma diferença de 16% na emergência entre o tratamento testemunha (54%) e o tratamento com *Bacillus megaterium* (70%). Todavia, não houve diferença significativa entre os diversos tratamentos em nenhum dos parâmetros avaliados (Tabela 2.5).

Apesar dos resultados desta safra não terem sido animadores com relação à eficácia dos produtos biológicos no tratamento de sementes de soja, mas devido à sua importância na agricultura, para reduzir a utilização de produtos químicos e garantir a produção de alimentos mais saudáveis sem agredir o meio ambiente, este trabalho deverá ter continuidade, testando-se além desses outros agentes biológicos disponíveis.

**Tabela 2.3.** Efeito do tratamento de sementes com diversos agentes biológicos e um fungicida na, emergência, população final, na altura de plantas e no rendimento da soja 'BRS 133' na safra 2001/2002 em Londrina, PR. Embrapa Soja, Londrina, PR, 2002.<sup>1</sup>

Tratamentos	Emergência (%)	População final (%)	Altura de plantas (cm)	Rendimento (kg/ha)
1. Testemunha	83ab <sup>2</sup>	77 ns <sup>3</sup>	71 ns <sup>3</sup>	1,752 ns <sup>3</sup>
2. <i>Bacillus megaterium</i> (P) <sup>4</sup>	90ab	77	69	1,600
3. <i>Bacillus megaterium</i> (PM) <sup>5</sup>	86ab	79	68	1,584
4. <i>Pantoea agglomerans</i> (P) <sup>4</sup>	89ab	78	66	1,546
5. <i>Pantoea agglomerans</i> (PM) <sup>5</sup>	94a	81	60	1,319
6. <i>Pseudomonas putida</i> (P) <sup>4</sup>	86ab	78	69	1,706
7. <i>Pseudomonas putida</i> (PM) <sup>5</sup>	91ab	75	69	1,686
8. <i>Paenibacillus macerans</i> (P) <sup>6</sup>	92ab	77	66	1,611
9. <i>Paenibacillus macerans</i> (PM) <sup>7</sup>	92ab	79	68	1,586
10. <i>Pseudomonas fluorescens</i> (P) <sup>8</sup>	79b	70	64	1,460
11. <i>Pseudomonas fluorescens</i> (PM) <sup>9</sup>	83ab	77	73	1,631
12. Derosal Plus (200 ml/100 kg)	95ab	81	65	1,586
CV (%)	5,83	6,61	9,87	16,20

<sup>1</sup> Semeadura 19/12/2001, colheita 11/04/2002.

<sup>2</sup> Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>3</sup> ns: valores não significativos.

<sup>4</sup> 300 g/100 kg de sementes (4,33%).

<sup>5</sup> 13 g em 800 ml de água (PM).

<sup>6</sup> Embrapa 144 (4,33%) 300 g/100 kg de sementes (PM).

<sup>7</sup> Embrapa 144 (13 g em 800 ml de água).

<sup>8</sup> Embrapa 42 (4,33%) 300 g/100 kg de sementes (P).

<sup>9</sup> Embrapa 42 (13 g em 800 ml de água).

**Tabela 2.4.** Efeito do tratamento de sementes com diversos agentes biológicos e um fungicida na, emergência e no rendimento da soja 'BRS 133' na safra 2001/2002 em Pirassununga, SP. Embrapa Soja. Londrina, PR, 2002<sup>1</sup>

Tratamentos	Emergência (%)	Rendimento (kg/ha)
1. Testemunha	85abc <sup>2</sup>	2,842 ns <sup>3</sup>
2. <i>Bacillus megaterium</i> (P) <sup>4</sup>	79c	2,428
3. <i>Bacillus megaterium</i> (PM) <sup>5</sup>	81bc	2,665
4. <i>Pantoea agglomerans</i> (P) <sup>4</sup>	80c	2,558
5. <i>Pantoea agglomerans</i> (PM) <sup>5</sup>	80bc	2,547
6. <i>Pseudomonas putida</i> (P) <sup>4</sup>	83abc	2,787
7. <i>Pseudomonas putida</i> (PM) <sup>5</sup>	87ab	2,834
8. <i>Paenibacillus macerans</i> (P) <sup>6</sup>	86abc	2,867
9. <i>Paenibacillus macerans</i> (PM) <sup>7</sup>	85abc	2,256
10. <i>Pseudomonas fluorescens</i> (P) <sup>8</sup>	89a	2,715
11. <i>Pseudomonas fluorescens</i> (PM) <sup>9</sup>	87ab	2,705
12. Derosal Plus (200 ml/100 kg)	88a	2,691
CV (%)	5,19	11,36

<sup>1</sup> Semeadura 14/12/2001, leitura da emergência 17/01/2002.

<sup>2</sup> Na mesma coluna, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan 5% de probabilidade.

<sup>3</sup> ns: valores não significativos.

<sup>4</sup> 300 g/100 kg de sementes (4,33%).

<sup>5</sup> 13 g em 800 ml de água (PM).

<sup>6</sup> Embrapa 144 (4,33%) 300 g/100 kg de sementes (PM).

<sup>7</sup> Embrapa 144 (13 g em 800 ml de água).

<sup>8</sup> Embrapa 42 (4,33%) 300 g/100 kg de sementes (P).

<sup>9</sup> Embrapa 42 (13 g em 800 ml de água).

**Tabela 2.5.** Efeito do tratamento de sementes com diversos agentes biológicos e um fungicida na emergência, na altura de plantas e no rendimento da soja 'BRS 133' na safra 2001/2002 em Dourados, MS. Embrapa Soja. Londrina, PR, 2002.<sup>1</sup>

Tratamentos	Emergência (%)	Altura de plantas (cm)	Rendimento (kg/ha)
1. Testemunha	54 ns <sup>2</sup>	34 ns <sup>3</sup>	1.638 ns <sup>3</sup>
2. <i>Bacillus megaterium</i> (P) <sup>3</sup>	70	43	2.500
3. <i>Bacillus megaterium</i> (PM) <sup>4</sup>	69	43	2.734
4. <i>Pantoea agglomerans</i> (P) <sup>3</sup>	62	42	2.600
5. <i>Pantoea agglomerans</i> (PM) <sup>4</sup>	63	41	2.825
6. <i>Pseudomonas putida</i> (P) <sup>3</sup>	64	40	2.569
7. <i>Pseudomonas putida</i> (PM) <sup>4</sup>	66	39	2.366
8. <i>Paenibacillus macerans</i> (P) <sup>5</sup>	65	38	1.969
9. <i>Paenibacillus macerans</i> (PM) <sup>6</sup>	69	43	2.706
10. <i>Pseudomonas fluorescens</i> (P) <sup>7</sup>	55	38	2.384
11. <i>Pseudomonas fluorescens</i> (PM) <sup>8</sup>	58	37	2.678
12. Derosal Plus (200 ml/100 kg)	64	38	2.244
CV (%)	16,40	14,28	32,04

<sup>1</sup> Semeadura 0/12/2002.

<sup>2</sup> ns: valores não significativos.

<sup>3</sup> 300 g/100 kg de sementes (4,33%).

<sup>4</sup> 13 g em 800 ml de água (PM).

<sup>5</sup> Embrapa 144 (4,33%) 300 g/100 kg de sementes (PM).

<sup>6</sup> Embrapa 144 (13 g em 800 ml de água).

<sup>7</sup> Embrapa 42 (4,33%) 300 g/100 kg de sementes (P).

<sup>8</sup> Embrapa 42 (13 g em 800 ml de água).





---

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária***  
***Centro Nacional de Pesquisa de Soja***

*Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*  
*Caixa Postal, 231 - CEP: 86001-970 - Londrina - Paraná*  
*Telefone: (43) 3371 6000 - Fax: (43) 3371 6100*  
*<http://www.cnpso.embrapa.br> - E-mail: [sac@cnpso.embrapa.br](mailto:sac@cnpso.embrapa.br)*